

**UNTERSUCHUNGEN ZUR ENTSTEHUNG DER  
SOGENANNTEN URÄMISCHEN ENTEROCOLITIS  
IN EXPERIMENTELL ERZEUGTER  
CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ**

Hans Arnholdt

1976







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41551910\\_0046](https://archive.org/details/IA41551910_0046)

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. M. Eder

UNTERSUCHUNGEN ZUR ENTSTEHUNG DER SOGENANTEN  
URÄMISCHEN ENTEROCOLITIS IN EXPERIMENTELL  
ERZEUGTER CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Hans Arnholdt  
aus  
Bevensen

1975

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin  
der Universität München



Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. U. Löhrs

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. Eder

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 20.1.76

## Inhaltsverzeichnis

Seite

|         |                                                                                                                      |    |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.      | <u>Einleitung</u><br>=====                                                                                           | 1  |
| 2.      | <u>Methodik</u><br>=====                                                                                             | 6  |
| 2.1.    | <u>Autoradiographie</u>                                                                                              | 6  |
| 2.2.    | <u>Untersuchungsmethoden</u>                                                                                         | 7  |
| 2.2.1.  | Das %-markierte Mitosen Verfahren                                                                                    | 7  |
| 2.2.2.  | Bestimmung des $^3\text{H}$ -Markierungs-Index                                                                       | 9  |
| 2.2.3.  | Das Doppelmarkierungsverfahren                                                                                       | 10 |
| 2.2.4.  | Wanderung $^3\text{H}$ -markierter Darmepithelzellen                                                                 | 13 |
| 2.2.5.  | Bestimmung des Mitose-Index                                                                                          | 13 |
| 2.2.6.  | Bestimmung der Zellanzahl pro Regenera-<br>tionszone, Krypte und Zotte                                               | 14 |
| 2.2.7.  | Messung von Regenerationszone, Krypte und<br>Zotte                                                                   | 14 |
| 2.2.8.  | Gleichzeitige Darstellung der alkalischen<br>Bürstensaumphosphatase und Histoautoradio-<br>graphie                   | 14 |
| 2.2.9.  | Zellzählung in der Lamina propria der Zot-<br>ten und der nicht epithelialen Zellen in<br>der Zottenepithelzellreihe | 15 |
| 2.2.10. | Durchsicht der Präparate auf histologische<br>Veränderungen                                                          | 15 |
| 2.2.11. | Statistik                                                                                                            | 15 |
| 2.3.    | <u>Material und technische Durchführung</u>                                                                          | 15 |
| 2.4.    | <u>Versuchsdurchführung</u>                                                                                          | 16 |
| 2.4.1.  | Versuch A                                                                                                            | 16 |
| 2.4.2.  | Versuch B                                                                                                            | 18 |

|                                                                                    | Seite |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 3. <u>Ergebnisse</u><br>=====                                                      | 19    |
| 3.1. <u>Postoperative Phase</u>                                                    | 19    |
| 3.1.1. Versuch A                                                                   | 19    |
| 3.1.2. Versuch B                                                                   | 21    |
| 3.2. <u>Makroskopische und mikroskopische Befunde</u>                              | 23    |
| 3.3. <u>Histologische und fermenthistochemische</u><br><u>Untersuchungsbefunde</u> | 26    |
| 3.3.1. Histologie                                                                  | 26    |
| 3.3.2. Fermenthistochemie                                                          | 28    |
| 3.4. <u>Proliferationskinetische Befunde: Versuch A</u>                            | 28    |
| 3.4.1. %-markierte Mitosen-Methode                                                 | 28    |
| 3.4.2. <sup>3</sup> H-Markierungs-Index                                            | 36    |
| 3.4.3. Mitose-Index                                                                | 38    |
| 3.4.4. Zellzahl in Krypte und Regenerationszone                                    | 38    |
| 3.4.5. Zellzählung und Messung der Zotten                                          | 39    |
| 3.4.6. Wanderung <sup>3</sup> H-markierter Epithelzellen auf<br>der Zotte          | 41    |
| 3.4.7. Zellzählung in der Lamina propria der<br>Dünndarmzotten                     | 44    |
| 3.5. <u>Versuch B</u>                                                              | 46    |
| 3.5.1. <sup>3</sup> H-Markierungs-Index                                            | 46    |
| 3.5.2. Doppelmarkierungsverfahren                                                  | 48    |
| 3.5.3. Mitose-Index                                                                | 51    |
| 3.5.4. Zellzählung in der Krypte und auf der<br>Zotte                              | 51    |
| 4. <u>Zusammenfassung der Ergebnisse</u><br>=====                                  | 52    |
| 4.1. <u>Histologische und fermenthistochemische</u><br><u>Veränderungen</u>        | 52    |
| 4.2. <u>Proliferationskinetische Befunde</u>                                       | 52    |
| 4.3. <u>Morphometrische Befunde</u>                                                | 53    |

Seite

5. Diskussion  
=====

54

6. Zusammenfassung  
=====

66



Meinen Eltern in Dankbarkeit  
gewidmet.



## 1. Einleitung

=====

Die sogenannte urämische Enterocolitis mit hämorrhagischen und / oder ulcerierenden Schleimhautveränderungen ist unter den zahlreichen Komplikationen der chronischen Niereninsuffizienz seit langer Zeit bekannt (Treitz 1859). In Sektionsstatistiken haben Jaffé und Laing (1934) und Mason (1952) in 20% der Urämiefälle schwere Darmschleimhautveränderungen mit z.T. konfluierenden, pseudomembranösen Ulcerationen gefunden. Diese hatten sich besonders im Dickdarm, vor allem im Coecum und Colon ascendens manifestiert, während das Duodenum fast nie betroffen war. Als typische Symptome sind bei den ausgeprägten Darmschleimhautveränderungen vor allem Diarrhoen zu nennen, z.T. begleitet von Blutungen. Auch Einschränkungen der Dünndarmfunktion mit vermehrter Fettausscheidung und pathologischer Resorption von Disacchariden konnten in der Urämie nachgewiesen werden (Bloch et al., 1973).

Über den Entstehungsmechanismus der sogenannten urämischen Enterocolitis ist bis heute wenig bekannt. Folgende Theorien sind diskutiert worden:

Siegmund (1929) machte die von ihm regelmäßig beobachtete Arteriolonekrose für die Entstehung von Darmschleimhautnekrosen bei urämischen Patienten verantwortlich. Auch Pineau (1899) und Lemiére und Piédelièvre (1921) sahen neben dem beobachteten Blutdruckanstieg Gefäßveränderungen als mitverantwortlichen Faktor an.

Darmschleimhautblutungen infolge einer erhöhten Blutungsneigung in der Urämie wurden von Jaffé und Laing (1934) als initiale Veränderung angesehen, die dann über eine bakterielle Infektion zu einer Ulceration der Darmschleimhaut führen sollte.

Von mehreren Autoren wurde eine toxische Genese der Darmschleimhautveränderungen in der Niereninsuffizienz diskutiert. So sah Treitz (1859) in dem vikariierend in den

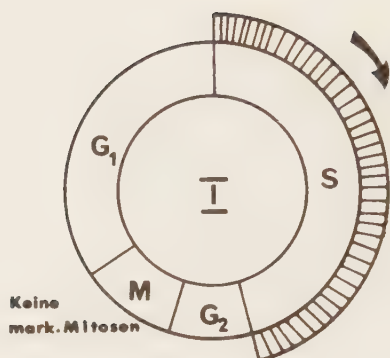
Darm ausgeschiedenen Harnstoff und dessen Umwandlung in Ammoniak durch bakterielle Urease den entscheidenden Schritt zur Entstehung der urämischen Enterocolitis. Auch Volhard (1931) nahm eine endogene Intoxikation als Ursache für die Darmschleimhautschädigung an; ebenso Würth (1932), der die von Siegmund (1929) aufgestellte Theorie der vasculären Genese zurückwies, da er nicht in allen Fällen von urämischer Enterocolitis Gefäßveränderungen fand. Die Tatsache, daß die Darmschleimhautveränderungen bzw. ihre Symptome sich nach Dialyse bessern, wurde als Hinweis auf eine toxische Genese gewertet (Sarre, Gessler, Heinze 1965). Um welche Noxe es sich dabei handeln könnte, ist bis heute unklar geblieben. Nach den heute vorliegenden Erkenntnissen scheint es sich nicht um eine einzige Substanz zu handeln, die als "Urämiegift" wirksam wird, sondern die biochemischen Ursachen für das Urämiesyndrom, so z.B. auch die Darmschleimhautschädigungen, dürften unter einer Reihe von kleinmolekularen, dialysierbaren Substanzen und in Elektrolyt- und Wasserstoffwechselstörungen zu suchen sein (Hodler und Vorburger 1973). Auf jeden Fall ist offensichtlich der Harnstoff nicht als alleinige Urämienoxe anzusehen (Merrill et al. 1962).

Der Nachweis einer direkten toxischen Schädigung des Darmschleimhautepithels durch eine nicht genau definierte Urämienoxe ist bisher nicht erbracht worden. Einen Hinweis in diese Richtung geben Befunde von Riecken und Mitarb. (1969, 1970), die an Dünndarmbiopsien einzelner Patienten in der terminalen Phase einer Niereninsuffizienz nicht nur eine Umgestaltung der Schleimhautarchitektur, sondern auch histochemische Fermentabschwächungen im differenzierten Schleimhautepithel fanden.

Wenn der sogenannten urämischen Enterocolitis tatsächlich eine direkte Darmschleimhautschädigung zugrunde liegt, so sind grundsätzlich zwei Angriffspunkte an der Schleimhaut möglich, nämlich einerseits am differenzierten Oberflächenepithel, andererseits am regenerierenden Epithel in den Lie-

berkühnschen Krypten. Denn in der Darmschleimhaut findet die Zellregeneration ausschließlich in den Lieberkühnschen Krypten statt, sie ist mit Hilfe der Histoautoradiographie nach Zufuhr von markierten DNS-Vorläufern direkt nachweisbar. Im oberen Kriptenanteil verliert die aus der Krypte auswandernde Zelle ihre Teilungsfähigkeit und differenziert sich im Dünndarm unter Entwicklung ihrer Fermentausstattung zum absorptionsfähigen Enterocyten, im Dickdarm zur differenzierten Oberflächenepithelzelle. Bei den kleinen Laboratoriumstieren Ratte und Maus wandert der Enterocyt in 48 Stdt., beim Mensch nach einzelnen autoradiographischen Untersuchungen (Lipkin und Mitarb. 1963, McDonald und Mitarb. 1964) in etwa 5-6 Tagen zur Zottenspitze, wo er in die Darmlichtung abgestoßen wird. Zellverlust und Zellregeneration stehen dabei in einem Fließgleichgewicht. Die Regenerationspopulation ist normalerweise etwa in den unteren zwei Dritteln der Krypte angeordnet. Die regenerierenden Zellen durchlaufen einen Generationscyclus, der sich in folgende Phasen gliedert (vgl. Quastler u. Sherman 1959): Die prämitotische DNS-Synthese- oder S-Phase, in der bei autoradiographischer Technik auch der Einbau des radioaktiv markierten Thymidins erfolgt; die auf sie folgende prämitotische Ruhephase ( $G_2$ -Phase) und die Mitose sowie die postmitotische Ruhe- oder  $G_1$ -Phase. Die Gesamtzyclusdauer beträgt dabei bei der Ratte etwa 12-14 Std. In der Gesamtbilanz findet in der Krypte eine bivalente Zellteilung statt, d.h. es liegt eine steady-state-Population vor. Diese kurz skizzierten Bedingungen gelten auch beim Menschen, nur mit dem Unterschied, daß der Generationscyclus offenbar länger dauert (vgl. Abb. 1).

Vor dem Hintergrund der Kenntnis der Darmschleimhautregeneration liegt es nahe, ähnlich wie bei anderen Noxen, wie z.B. Cytostatica (Eder, Löhrs 1965; Eder, Rostock, Vogel 1966), auch in der formalen Pathogenese der sogenannten urämischen Enterocolitis einen Eingriff in die physiologischen Schleimhautepithelregeneration anzunehmen.



Zeitpunkt: Injektion

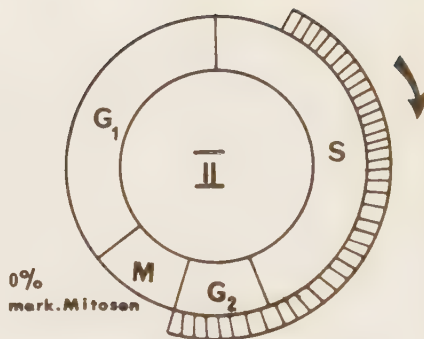
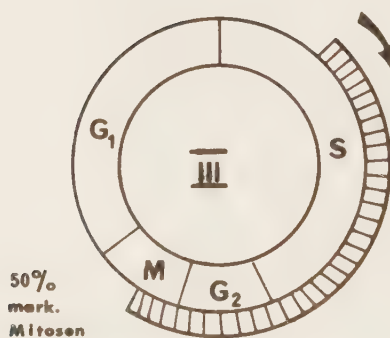
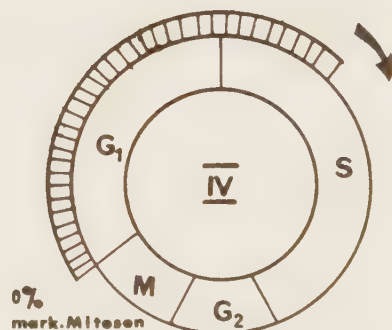
Zeitpunkt:  $T_{G_2}$  nach Inj.Zeitpunkt:  $T_{G_2} + T_{M/2}$  nach Inj.Zeitpunkt:  $T_{G_2} + T_M + T_S$  n. Inj.

Abb.: 1 % markierte Mitosen-Verfahren

Die während der Injektion von  $^3\text{H}$ -Thymidin sich in der DNS-Synthesephase befindenden Zellen (I) werden markiert (gestreifter Sektor) und nach  $T_{G_2}$  als markierte Mitosen beobachtbar (II). Nach  $T_{G_2} + \frac{1}{2} T_M$  sind ungefähr 50% der beobachtbaren Mitosen markiert (III). Nach  $T_{G_2} + T_M + T_S$  haben alle markierten Zellen die Mitosephase vollständig durchlaufen (IV).

Im Zusammenhang mit vorher bereits durchgeführten Arbeiten von Castrup, Löhrs, Eder (1970) und Löhrs (1972) war es daher das Ziel der vorliegenden Untersuchung, Veränderungen der normalen Darmschleimhautepithelregeneration in einer experimentell erzeugten chronischen Niereninsuffizienz mit histoautoradiographischen, morphometrischen und histologischen Methoden zu analysieren.

## 2. Methodik =====

### 2.1. Autoradiographie

Bevor auf die in der vorgelegten Arbeit angewandten autoradiographischen Methoden eingegangen wird, sollen die Grundlagen der Histoautoradiographie kurz skizziert werden:

Mit Hilfe der Autoradiographie (ARG) ist es möglich, eine in den Organismus eingeschleuste Isotopen-markierte Substanz auf deren weiteren Weg in verschiedenen Geweben zu verfolgen. In den vorliegenden Versuchen wurde  $^3\text{H}$ -markiertes Thymidin, ein spezifischer Vorläufer der Desoxyribonukleinsäure (DNS) (Reichhard und Estborn 1951), verwendet. Der Einbau des  $^3\text{H}$ -Thymidins in die Kern-DNS des Darm-schleimhautepithels erfolgt praktisch ausnahmslos während der prämitotischen DNS-Synthesephase (S-Phase) des Mitosecyclus (B. Schultze 1968; Löhrs et al. 1969). Die von  $^3\text{H}$ -Thymidin ausgehende  $\beta$ -Strahlung hat eine geringe Reichweite von nur etwa  $1\mu$  (bei Dichte 1) und kann so in histoautoradiographischen Präparaten einem bestimmten Zellkern sehr genau zugeordnet werden. Nur 13-15% der zugeführten  $^3\text{H}$ -Thymidinaktivität werden in die DNS eingebaut, der Rest in der Leber zu Thymin und  $^3\text{H}$ -markiertem Wasser metabolisiert (B. Schultze 1968). Die Verfügbarkeitszeit des  $^3\text{H}$ -Thymidins nach Injektion ist in vivo kurz, sie beträgt ca. 40-60 min., und der Hauptanteil wird in den ersten 20 Minuten eingebaut (Koburg u. Maurer 1962; Lennartz u. Maurer 1964; Schultze 1968), so daß nahezu eine "pulse"-Markierung erreicht wird. Die DNS-Syntheserate ist während der gesamten prämitotischen DNS-Synthesephase konstant (Koburg u. Maurer 1962; Pilgrim u. Maurer 1962; Schultze et al. 1972). Die neu synthetisierte DNS verteilt sich in der Mitose praktisch zur Hälfte auf die beiden Tochterkerne (Löhrs et al. 1972).

Nach Zufuhr von Tritium-markiertem Thymidin werden also innerhalb eines kurzen Zeitraums nur solche Zellen markiert,

die sich in der prämitotischen DNS-Synthesephase befinden.

Mit Hilfe der  $^3\text{H}$ -Thyminid-Histoautoradiographie läßt sich deshalb bei Verwendung entsprechender Versuchsanordnungen das Verhalten von proliferierenden Zellen im Mitosecyclus genau verfolgen.

## 2.2. Untersuchungsmethoden:

Zur Analyse der Proliferationskinetik wurden in der vorliegenden Arbeit folgende autoradiographischen Methoden angewandt:

### 2.2.1. Das %-markierte-Mitosen-Verfahren (Abb. 1)

(Quastler u. Sherman 1959):

Bei dieser Methode werden die Versuchstiere nach einmaliger  $^3\text{H}$ -Thyminid-Injektion in regelmäßigen Zeitabständen über ca. 20 Std. post injectionem getötet. In den histologischen Schnitten der untersuchten Darmabschnitte wird dann der prozentuale Anteil markierter Mitosen an der Gesamtmitosezahl bestimmt.

Die durch einmalige  $^3\text{H}$ -Thyminid Injektion markierten Zellkerne durchlaufen bis zur Tötung der Versuchstiere weiteren Generationscyclus und werden nach Passieren der  $G_2$ -Phase ( $T_{G_2}$ ) als markierte Mitosen sichtbar. Nach Ablauf der  $G_2$ - und der Mitose-Phase ( $T_{G_2+T_M}$ ) sind zumindest theoretisch 100% der Mitosen markiert. In einem Koordinatensystem läßt sich die prozentuale Häufigkeit markierter Mitosen gegen die Zeit graphisch als Kurve darstellen (vgl. Abb. 9-13). Die mittlere Dauer der DNS-Synthesephase ( $T_S$ ) ergibt sich aus der Kurve am genauesten aus dem Abstand der beiden Schenkel der ersten Kurvenwelle auf dem 50% Niveau. Die mittlere Zeitdauer für  $G_2+M$  läßt sich aus dem Abstand zwischen Injektion und Erreichen des Maximalwertes markierter Mitosen ablesen. Die Dauer des gesamten Mitosecyclus für die meisten regenerierenden Zellen ( $T_C$  häufigst)

läßt sich aus dem Abstand zwischen den beiden Scheiteln der ersten und zweiten Welle markierter Mitosen bestimmen. Die zweite Kurvenwelle entsteht, wenn der Versuchszeitraum so weit ausgedehnt wird, daß die markierten Zellkerne zum zweiten Mal die Mitose durchlaufen.

Außerdem ergibt sich die Zeitdauer der postmitotischen Ruhephase ( $T_{G1}$ ) aus folgender Differenz:

$$T_{G1} = T_C - (T_S + T_{G2} + T_M).$$

Aus dem Kurvenverlauf ist zu ersehen, daß der Anstieg zur 1. Kurvenwelle steiler ist als deren Abfall, und daß die 2. Kurvenwelle nicht das Niveau der ersten erreicht. Der Grund hierfür wie auch für das Nichterreichen des 100%- bzw. 0%-Wertes im Kurvenverlauf liegt in der biologischen Variation der Generationszeiten der einzelnen Zellen (Schultze et al. 1972).

Bei der Auszählung der histioautoradiographischen Präparate der verschiedenen Darmabschnitte wurden bei sämtlichen autoradiographischen Methoden nur solche Zellkerne als markiert gewertet, die mindestens 5 Silberkörnchen zeigten. Beim %-markierte-Mitose-Verfahren wurden pro Präparat mindestens 300 Mitosen ausgezählt. Gewertet wurden Mitosefiguren von der Meta- bis zur Telophase. Die erhaltenen Prozentanteile markierter Mitosen an der Gesamtmitosenzahl wurden in Diagrammen gegen die Intervallzeit zwischen Injektion und Tötung des entsprechenden Tieres eingetragen. Aus den Kurven wurden  $T_S$ ,  $T_C$  (nicht im Dickdarm, da dort der beobachtete Zeitraum von 20 Std. nicht ausreichte, um einen 2. Kurvenscheitel zu bekommen) und  $T_{G2} + T_M$  ermittelt.

### 2.2.2. Bestimmung des $^3\text{H}$ -Markierungsindex

Er ist definiert als der relative Anteil der nach einmaliger  $^3\text{H}$ -Thymidin-Injektion  $^3\text{H}$ -markierten Zellkerne an der Gesamtzellzahl der analysierten Zellpopulation. Bei Bestimmung des  $^3\text{H}$ -Index ist zu beachten, daß die Untersuchung erfolgt, bevor die ersten markierten Zellen die Mitose durchlaufen haben. Der  $^3\text{H}$ -Index ist sowohl von der Dauer

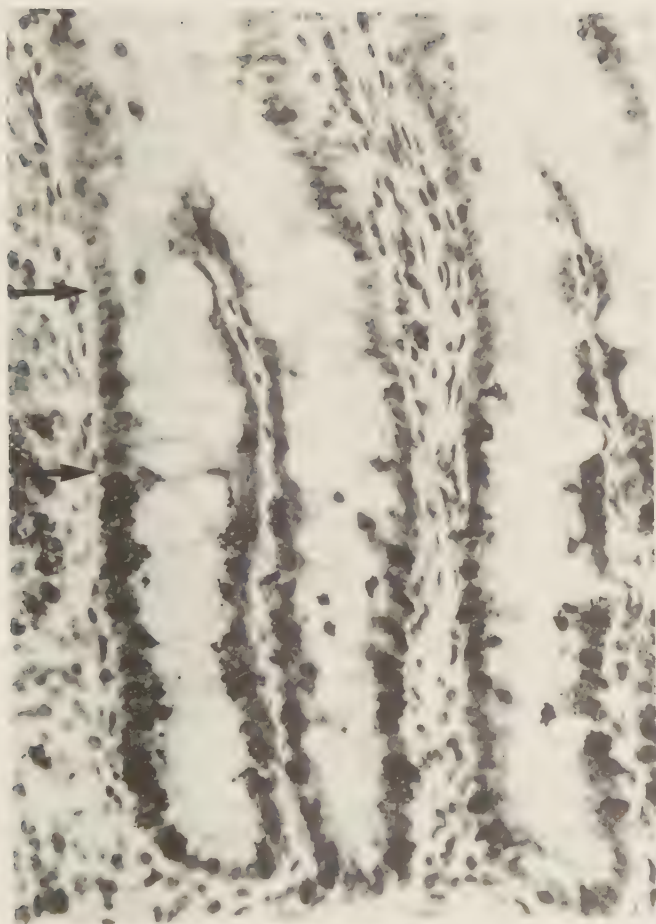


Abb.: 2      Darstellung des Krypten-Zotten-Übergangs  
                 (oberer Pfeil) und der Abgrenzung der Regene-  
                 rationszone in der Krypte nach oben (unterer Pfeil).  
Vergr. ca. 1800x

der S-Phase ( $T_S$ ) als auch von der Dauer der Generationszeit ( $T_C$ ) abhängig und daher nur als grobes Maß zur Schätzung der Proliferationsrate zu verwenden. Im Darmschleimhautepithel findet die Regeneration ausschließlich in den Lieberkühnschen Krypten statt (s. z.B. Quastler und Sherman 1959), wobei die eigentliche Regenerationspopulation bei den kleinen Versuchstieren etwa in den unteren zwei Dritteln der Krypte lokalisiert ist (z.B. Leshner et al. 1961; Schultze et al. 1972; Löhrs 1972). Daher läßt sich der  $^3\text{H}$ -Index einmal als Anteil der  $^3\text{H}$ -markierten Zellen an der Gesamtheit der Kryptenpopulation ( $^3\text{H}\text{-Index}_{\text{Gesamt}}$ ), zum anderen als relativer bzw. prozentualer Anteil der  $^3\text{H}$ -markierten Zellen an den Zellen der Regenerationspopulation bestimmen ( $^3\text{H}\text{-Index}_{\text{korrigiert}}$ ) (vgl. Abb. 2).

Unter Heranziehung des  $^3\text{H}$ -Markierungsindex läßt sich nach der Formel: 
$$T_C = \frac{T_S}{^3\text{H}\text{-Index}}$$
 die Dauer des Generations-

cyclus ( $T_C$ ) errechnen. Bei Verwendung des auf die gesamte Kryptenpopulation bezogenen  $^3\text{H}$ -Index erhält man zu lange Cycluszzeiten, da nicht alle Kryptenzellen an der Proliferation teilnehmen, während der korrigierte  $^3\text{H}$ -Index ein genaueres Maß darstellt.

In den vorliegenden Versuchen wurde der  $^3\text{H}\text{-Index}_{\text{gesamt}}$  bzw. korrigiert in mindestens je 10 Krypten in Präparaten aller Darmabschnitte bestimmt. Verwendet wurden dabei nur Kryptenlängsschnitte. Die für den korrigierten Index notwendige Abgrenzung der Regenerationszone in der Krypte nach oben durch die führende markierte Zelle bereitet im Dickdarm Schwierigkeiten, da hier auf Grund der relativ langen Generationszeit die Anzahl markierter Zellen nur gering ist; deshalb wurden nur Kryptenlängsschnitte mit mindestens 5 markierten Zellen verwendet.

### 2.2.3. Doppelmarkierungsverfahren

Dieses erstmalig von Hilscher und Maurer 1962 unter Verwendung von  $^{14}\text{C}$ - und  $^3\text{H}$ -Thymidin angewandte Verfahren wurde in der vorliegenden Arbeit in einer Modifikation (Pilgrim und Maurer 1962) mit einer schwachen und starken  $^3\text{H}$ -Thymidin-dosis verwendet.

Die Doppemarkierungsmethode beruht auf folgendem Prinzip (Abb. 3):

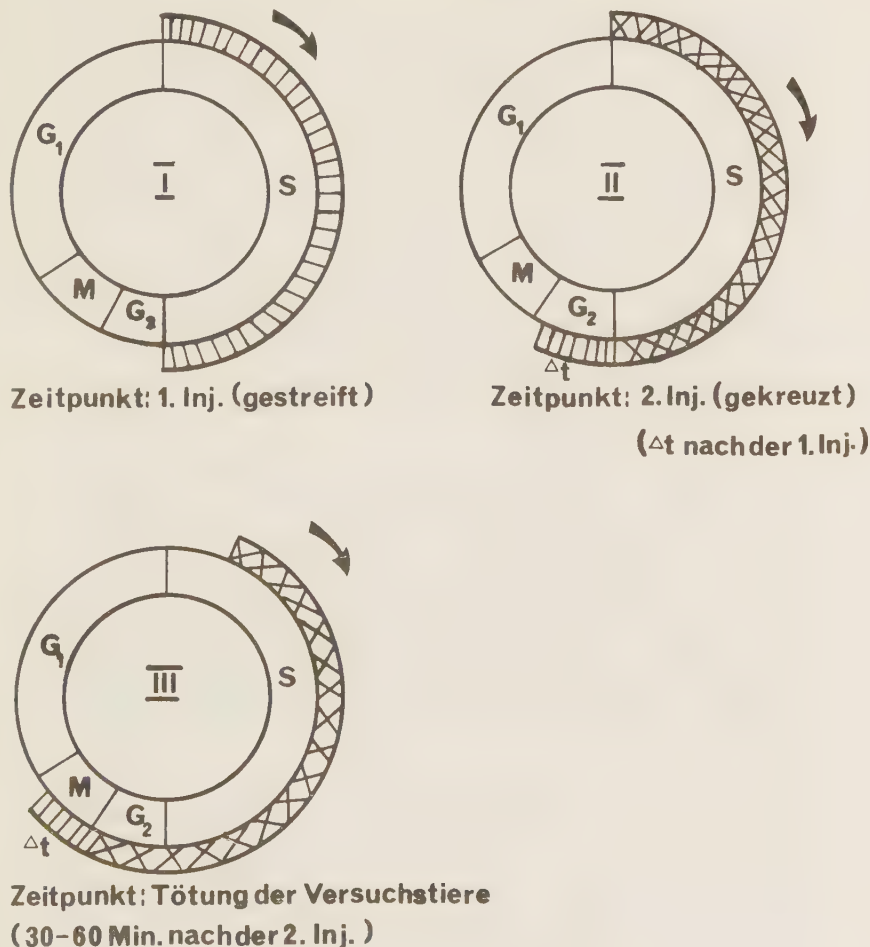


Abb.: 3 Schema: Doppelmarkierungs-Verfahren

Mit einer ersten Injektion eines radioaktiv markierten DNS-Bausteins werden alle in der DNS-Synthesephase befindlichen Zellen markiert (I). Durch die zweite Injektion eines im Markierungstyp von der ersten Injektion unterscheidbaren DNS-Vorläufers werden alle Zellen, die im Intervall zwischen beiden Injektionen die DNS-Synthesephase (S-Phase) beendet haben optisch erkennbar (II). Nach der Formel:

$$\frac{\text{xxxx}}{\text{IIII}} = \frac{S}{t} \quad \text{l\"ast sich damit die Dauer der S-Phase berechnen.}$$

Die Tötung der Versuchstiere muß erfolgen bevor die ersten markierten Zellen die Zellteilung (M) vollendet haben (III), um zu vermeiden, daß sie doppelt gezählt werden.

Mit einer ersten  $^{14}\text{C}$ -Thymidin-Injektion werden alle sich zu diesem Zeitpunkt in der S-Phase befindenden Zellen markiert. Nach einem Zeitintervall  $\Delta t$  folgt eine zweite Injektion, diesmal mit  $^3\text{H}$ -Thymidin. In den histoautoradiographischen Präparaten sind dann folgende 3 Markierungstypen zu erkennen: 1.) Nur  $^{14}\text{C}$ -markierte Kerne. Dieser Teil der Zellen ist noch vor der 2. Injektion aus der S-Phase in die  $G_2$ -Phase übergetreten und hat so nur die erste  $^{14}\text{C}$ -Injektion abbekommen. 2.) Doppelmarkierte Kerne: Diese Zellen befanden sich während beider Injektionen in der S-Phase und werden deshalb doppelt, d.h.  $^{14}\text{C}$ - und  $^3\text{H}$ -markiert. 3.) Nur  $^3\text{H}$ -Thymidin markierte Kerne. Sie sind erst im Intervall  $\Delta t$  (zwischen beiden Injektionen) in die S-Phase eingetreten (vgl. Abb. 3).

Am Darmschleimhautepithel ist dieser kurz skizzierten Originalmethode ein von Pilgrim und Maurer (1962) modifiziertes Verfahren mit einer ersten schwachen und einer zweiten starken  $^3\text{H}$ -Thymidindosis vorzuziehen; denn bei den dicht gelagerten Zellkernen des regenerierenden Dünndarmschleimhautepithels ist eine eindeutige Zuordnung der strichförmigen  $^{14}\text{C}$ -Spuren in der Filmemulsion zu den einzelnen Zellkernen nicht möglich. Bei der modifizierten Methode mit einer schwachen und einer starken  $^3\text{H}$ -Thymidin Injektion lassen sich allerdings nur die schwach markierten von den doppelt- und stark markierten Zellkernen differenzieren.

Die Berechnung der DNS-Synthesephase ( $T_S$ ) und die Generationszeit ( $T_C$ ) in einem sog. steady-state-System wie dem Darmschleimhautepithel erfolgt dann so: Die Anzahl der schwach markierten Zellkerne repräsentiert den Zellfluß während des Zeitintervalls zwischen den beiden Injektionen ( $\Delta t$ ) aus der DNS-Synthesephase heraus; die Anzahl der stark und doppelt markierten Kerne entspricht der Gesamtzahl der gleichzeitig in der S-Phase befindlichen Zellen. Daraus ergibt sich folgende Gleichung: Schwach mark. Kerne

$$= \frac{\Delta t}{T_S} \cdot \text{stark mark. Kerne} , \text{ das ergibt für die Dauer der DNS-Syn-}$$

these phase:

$$T_S = \frac{\Delta t \times \text{stark u. doppelt mark. Kerne}}{\text{schwach mark. Kerne}}$$

Wichtig bei dieser Methode ist, daß das Intervall zwischen der ersten Injektion und der Tötung der Versuchstiere kleiner als  $T_{G2} + T_M$  ist, damit die durch die erste Injektion schwach markierten Kerne sich nicht teilen und damit nicht doppelt gezählt werden.

An den histoautoradiographischen Präparaten wurden an Kryptenlängsschnitten alle Zellen der Regenerationszone nach unmarkierten, schwach markierten und stark markierten Zellkernen differenziert, bis mindestens 50 schwach markierte Kerne erreicht waren. Ins Kryptenlumen gewanderte Mitosen wurden den entsprechenden Gruppen zugeordnet.

#### 2.2.4. Wanderung $^3\text{H}$ -markierter Darmepithelzellen:

Nach einmaliger  $^3\text{H}$ -Thymidin Injektion läßt sich bei Untersuchung in unterschiedlichen Zeitabständen die Wanderungsgeschwindigkeit der aus der Regenerationspopulation in den Krypten nachrückenden führenden markierten Epithelzellen auf den Zotten bestimmen und durch Ermittlung des prozentualen Anteils der schon durchwanderten Strecke an der gesamten Wanderungsstrecke die totale Wanderungszeit und auf diese Weise die Überlebenszeit differenzierter Enterocyten berechnen.

#### Nicht autoradiographische Untersuchungsmethoden

##### 2.2.5. Bestimmung des Mitoseindex:

Er ist definiert als der prozentuale Anteil der Mitosen an der zu analysierenden Zellpopulation. In den vorliegenden Versuchen wurden ermittelt: der Gesamt-Mitoseindex (bezogen auf die Gesamtzellzahl der Krypte) und der korrigierte Mitoseindex (bezogen auf die Zellzahl der Regenerationszone).

An mindestens 10 Kryptenlängsschnitten pro Präparat wurden immer beide Zellreihen und die im Lumen enthaltenen Mitosefiguren von der Meta- bis zur Telophase gezählt, bis mindestens 50 Mitosen erreicht waren. Mit dem

korrigierten Mitoseindex wird die Mitosezeit ( $T_M$ ) nach der Formel:  $T_M = \text{Mitoseindex}_{\text{korrig.}} \times T_C$  berechnet. Das Ergebnis wurde noch mit dem Tannock-Faktor (Tannock 1967) korrigiert, um bei Wanderung der Mitosen ins Kryptenlumen möglichst nur die Mitosen zu werten, die den angeschnittenen Zellreihen entstammen. Er wird errechnet aus dem Quotienten  $\frac{r}{R}$ , wobei r die Distanz der Mitosefigur zum Zentrum des Kryptenlumens und R der Radius der Krypte ist.

#### 2.2.6. Bestimmung der Zellanzahl pro Regenerationszone, Krypte und Zotte

Ausgewertet wurden nur Zotten und Krypten, von denen auf Grund der Form und der Länge angenommen werden konnte, daß sie in voller Länge angeschnitten waren. Ausgezählt wurden pro Präparat je 20 Zellreihen. Mit den erhaltenen Zellzahlen wurde der prozentuale Anteil der Regenerationszone an der Krypte ermittelt.

#### 2.2.7. Messung von Regenerationszone, Krypte und Zotte mittels Okularmikrometer an Längsschnitten

Gemessen wurden ebenfalls 20 Zellreihen pro Präparat. Der Anteil der Regenerationszone an der Krypte wurde auch mit den Meßergebnissen errechnet.

#### 2.2.8. Gleichzeitige Darstellung der alkalischen Bürstensaumphosphatase und Histoautoradiographie:

Hierbei wurde eine Modifikation eines von Eder (1964) entwickelten Verfahrens angewandt (vgl. Löhrs 1972). Die Darstellung der alkalischen Bürstensaumphosphatase erfolgte nach der von Burstone (1958) angegebenen Methode mit Naphtol-AS-B-Phosphat als Substrat und Ehtrot-Violett-LB-Salz als Kupplungssubstanz.

### 2.2.9. Zellzählung in der Lamina propria der Zotten und der nicht epithelialen Zellen in der Zottenepithelzellsreihe:

Gezählt wurden an Duodenumpräparaten von drei niereninsuffizienten und zwei Kontrolltieren in der Lamina propria der Zotten sämtliche Zellelemente innerhalb von 80 Quadraten des Leitz-Okular-Zählnetzes und alle nicht epithelialen Zellen in der Zottenepithelreihe über eine Strecke entsprechend 80 Seitenlängen der Leitz-Zählnetzquadrate.

### 2.2.10. Durchsicht der Präparate auf histologische Veränderungen

Von allen Darmabschnitten wurden unabhängig von der Autoradiographie zusätzlich 4µ dicke Längsschnitte hergestellt, an denen Hämatoxylin-Eosin-, Elastica-van Gieson-, Fibrinfärbungen und die PAS-Reaktion durchgeführt wurden.

### 2.2.11. Statistik:

Bei den einzelnen Meßreihen wurden Mittelwerte und die Standardabweichungen der Stichproben bestimmt und die Unterschiede mit dem Student-t-Test auf Signifikanz geprüft. Für die Berechnungen wurde ein Olivetti-Programm 101-Tischcomputer verwendet.

## 2.3. Material und technische Durchführung

Zu den Versuchen wurden insgesamt 92 zwei Monate alte, weibliche Wistar-Ratten aus der Zucht des Pathologischen Instituts der Universität München verwendet. Bei allen Tieren wurden jeweils 3cm lange Segmente von folgenden Darmabschnitten untersucht:

Duodenum: unmittelbar postpylorisch; Jejunum 60cm, Ileum 20cm proximal der Valvula ileocoecalis; Colon ascendens unmittelbar distal der Valvula ileocoecalis und Colon descendens etwa 20cm proximal des Anus. Die jeweils entnommenen Darmabschnitte wurden längs aufgeschnitten, ohne Dehnung auf Papp-

kärtchen aufgenadelt und ihr Inhalt vorsichtig mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Die Präparate wurden anschließend für 24 Std. in 6%igem, auf pH 7,0 gepuffertem Formalin fixiert. Nach 24-stündigem Wässern und nach Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe, Einbettung in Paraffin über Methylbenzoat und Benzol. Längsschnitte von 4 $\mu$  Dicke wurden nach Entparaffinierung und Waschung in inaktivem Thymidin (0,1 mg/ml) in der Dunkelkammer mit flüssiger Fotoemulsion (K2 oder G5 Ilford) beschichtet. Nach 14-tägiger Exposition und photographischer Entwicklung wurden sie mit Hämalaun oder Hämatoxylin-Eosin durch den Film hindurch gefärbt.

Das technische Verfahren zur Darstellung der alkalischen Bürstensaumphosphatase und einiger histologischer Färbungen wurde bereits bei den entsprechenden Untersuchungsmethoden (vgl. Abschn. 2.2.8.) beschrieben.

#### 2.4. Versuchsdurchführung

Die 92 zwei Monate alten weiblichen Wistar-Ratten (s. 2.3.) wurden auf zwei Versuchsreihen verteilt:

##### 2.4.1. Versuch A

Bei 45 zu Versuchsbeginn  $211,6 \pm 21,8$  g schweren Tieren wurde eine 5/6 Nierenresektion durchgeführt. Dazu wurden unter Äthernarkose nach dorsomedianem Hautschnitt und beiderseits paravertebraler Spaltung der Rückenmuskulatur die Nieren unter Schonung der Nebennieren freigelegt. Rechts wurde die ganze Niere nach Abbinden des Ureters und der Gefäße entfernt; links wurde durch Resektion an beiden Polen das Nierenparenchym auf ca. 1/3 reduziert. Durch Muskelnaht mit Catgut und Klammern des Hautschnittes wurde die Wunde verschlossen. Bei 30 Kontrolltieren wurde eine Scheinoperation mit beidseitiger Nierenfreilegung durchgeführt. Alle Tiere bekamen Standard-Preß-Futter und Trinkwasser ad libitum. Postoperativ wurden in der ersten Woche zwei, in der Folgezeit einmal wöchentlich Gewichtskontrollen durchgeführt.

Bei einigen Tieren, die nach dem Eingriff zu viel Gewicht verloren, wurde mehrmals bis zum Erreichen des Durchschnittsgewichts Sondennahrung (Brauns-Oral<sup>(R)</sup>, 1,5kcal/ccm) durch Magensonde zugeführt. Ebenfalls etwa wöchentlich wurden Serumharnstoffkontrollen (enzymatische Bestimmung; Biochemica-Test-Combination; Boehringer Mannheim) an Schwanzvenenblut durchgeführt. Außerdem wurde am Versuchsende bei Tötung der Tiere Serumkreatinin bestimmt (Biochemica-Test-Combination; Boehringer Mannheim).

Die Kontroll- und nierenresezierten Tiere wurden 59-61 Tage postoperativ getötet. Zur Durchführung des 3H-markierte-Mitosen-Verfahrens wurde allen Tieren 2µ Ci/g Körpergewicht <sup>3</sup>H-Thymidin intraperitoneal injiziert (spez. Aktivität 5,0 Ci/mMol; Radiochem. Centre Amersham). 30 min. post injectionem wurden je 2 Urämie- und Kontrolltiere, nach einer Stunde jeweils 2 weitere und in der Folgezeit von 20 Std. stündlich 1 oder 2 Tiere beider Gruppen durch cervicale Dislokation im Ätherrausch getötet. Die Urämietiere wurden entsprechend ihrem Harnstoffretentionswert ungefähr gleichmäßig über die 20 Stunden verteilt. Aus den sich nach Auswertung von mindestens 300 Mitosen pro Darmabschnitt ergebenden 3H-markierte-Mitosen-Kurven wurden die Dauer der DNS-Synthesezeit ( $T_S$ ) und die Dauer der gesamten Generationszeit ( $T_C$ ) sowie die Zeitdauer für die  $G_2$ -Phase + Mitose ( $T_{G_2} + T_M$ ) nach oben beschriebenem Verfahren ermittelt (vgl. Abschn. 2.2.1.). Für die beiden Dickdarmabschnitte mußte zur Berechnung der gesamten Generationszeit der <sup>3</sup>H-Index herangezogen werden (vgl. Abschn. 2.2.2.), da die Zeit von 20 Stunden nach Thymidin-Injektion nicht ausreichte, um einen 2. Kurvenscheitel zu erreichen.

Zur Bestimmung des <sup>3</sup>H-Markierungsindex wurden die in der 1. Std. nach Thymidin-Injektion getöteten 3 Urämie- und 4 Kontrolltiere herangezogen.

Bei den gleichen Tieren wurde der Mitose-Index, die Kryptentiefe, die Ausdehnung der Regenerationszone und die Zottenlänge durch Zellzählung und Messung mit dem Okularmikro-

meter bestimmt.

Die Wanderungsgeschwindigkeit und die gesamte Wanderungszeit der führenden markierten Epithelzelle in der Zottenepithelreihe wurde an 6 Kontroll- und 6 niereninsuffizienten Tieren 10-19 Std. nach  $^3\text{H}$ -Thymidin-Injektion in allen 3 Dünndarmabschnitten durch Zählung und Messung bestimmt.

#### 2.4.2. Versuch B

An 14 weiblichen ca 2 Monate alten Wistar-Ratten mit einem mittleren Gewicht von  $208,0 \pm 39,1$  g wurde eine Nierensektion nach dem oben angegebenen Verfahren durchgeführt. Bei den 10 überlebenden Tieren wurden 48-49 Tage nach der ersten Operation nochmals etwa 2/3 der resezierten und inzwischen kompensatorisch hypertrophierten linken Niere (vgl. Romen u. Heine 1972) reseziert. An 3 Kontrolltieren (Gewicht: je 210 g) wurden wiederum Scheinoperationen durchgeführt. Postoperativ wurde wie bei Versuch A verfahren.

Tötung der Tiere 22 Tage nach der 2. bzw. 70-71 Tage nach der 1. Operation. Vor der Tötung erhielten die Tiere im Abstand von 1 Std. eine schwache (Dosierung:  $1\mu\text{ Ci/gKG}$ ) und eine starke (Dosierung:  $5\mu\text{ Ci/gKG}$ )  $^3\text{H}$ -Thymidin-Dosis zur Durchführung der Doppelmarkierungsmethode. Dabei betrug das Intervall zwischen der 1. und der 2. Injektion 1 Std. und zwischen der 2. Injektion und der Tötung 47-60 min.

An Kryptenlängsschnitten wurden die schwach und stark bzw. doppelt markierten Zellkerne ausgezählt, bis mindestens 50 schwach markierte erfasst waren. Außerdem wurde der  $^3\text{H}$ -Markierungsindex gesamt u. korr. bestimmt, wobei die schwach markierten Zellen als unmarkierte gewertet wurden. Aus den so gewonnenen Zahlen wurde entsprechend den oben angegebenen Formeln (s. Abschn. 2.2.3.) die Dauer der DNS-Synthesephase ( $T_S$ ) und die der übrigen Mitosecyclusphasen berechnet. Die übrige Auswertung erfolgte in der gleichen Weise wie bei Versuch A.

### 3. Ergebnisse:

#### 3.1. Postoperative Phase

##### 3.1.1. Versuch A

Von den 45 nierenresezierten Versuchstieren starben 8 intraoperativ bzw. in den ersten 4 Tagen postoperativ. Die Todesursache war ein intraoperativer Atemstillstand in der Äthernarkose oder ein irreversibles Nierenversagen infolge zu ausgedehnter Nierenparenchymresektion und zusätzlich aufgetretener anämischer Infarkt (vgl. Romen und Heine 1972). Bezeichnenderweise lag bei diesen Tieren der Serumharnstoffwert vergleichsweise extrem hoch, z.B. bei einem am 2. postoperativen Tag verstorbenen Tier bei 380 mg%. 3 weitere Versuchstiere starben in der 3. bzw. 4. Woche p.op., nachdem sie kurz vor ihrem Tode hohe Harnstoffwerte mit 185 und 208 mg% gezeigt hatten. Von den 30 scheinoperierten Kontrolltieren starb eines am 9. Tag p.op. an ungeklärter Todesursache. Somit standen für die Auswertung 29 scheinoperierte Kontrolltiere und 34 niereninsuffiziente Versuchstiere zur Verfügung.

Harnstoffkontrollen: Ausgehend von einem Mittelwert von  $49,7 \pm 7,7$  mg% stieg der Harnstoff am ersten Tag p.op. auf durchschnittlich  $303 \pm 31$  mg% an. Wie die Kurve in Abb. 4 erkennen läßt, fielen die mittleren Harnstoffwerte innerhalb der ersten Woche p.op. auf etwa 150 mg%, d.h. etwa die Hälfte der ursprünglich erreichten p.op. Serumharnstoffwertes ab. Bis zur 4. Woche war eine weitere Abnahme auf  $129 \pm 25$  mg%, bis zur 8. Woche bis auf  $113 \pm 50$  mg% zu verzeichnen. Anschließend blieben die Werte um  $108 \pm 36$  mg% bis zum Versuchsende konstant. Es fällt dabei eine starke Streuung um die angegebenen Mittelwerte auf, d.h. bei den einzelnen Versuchstieren bestand eine erhebliche Variationsbreite im Grad ihrer Niereninsuffizienz. Der Kurvenverlauf zeigt außerdem, daß die mittleren Harnstoffwerte etwa 4 Wochen p.op. erneut anstiegen, wobei einzelne Tiere eine be-

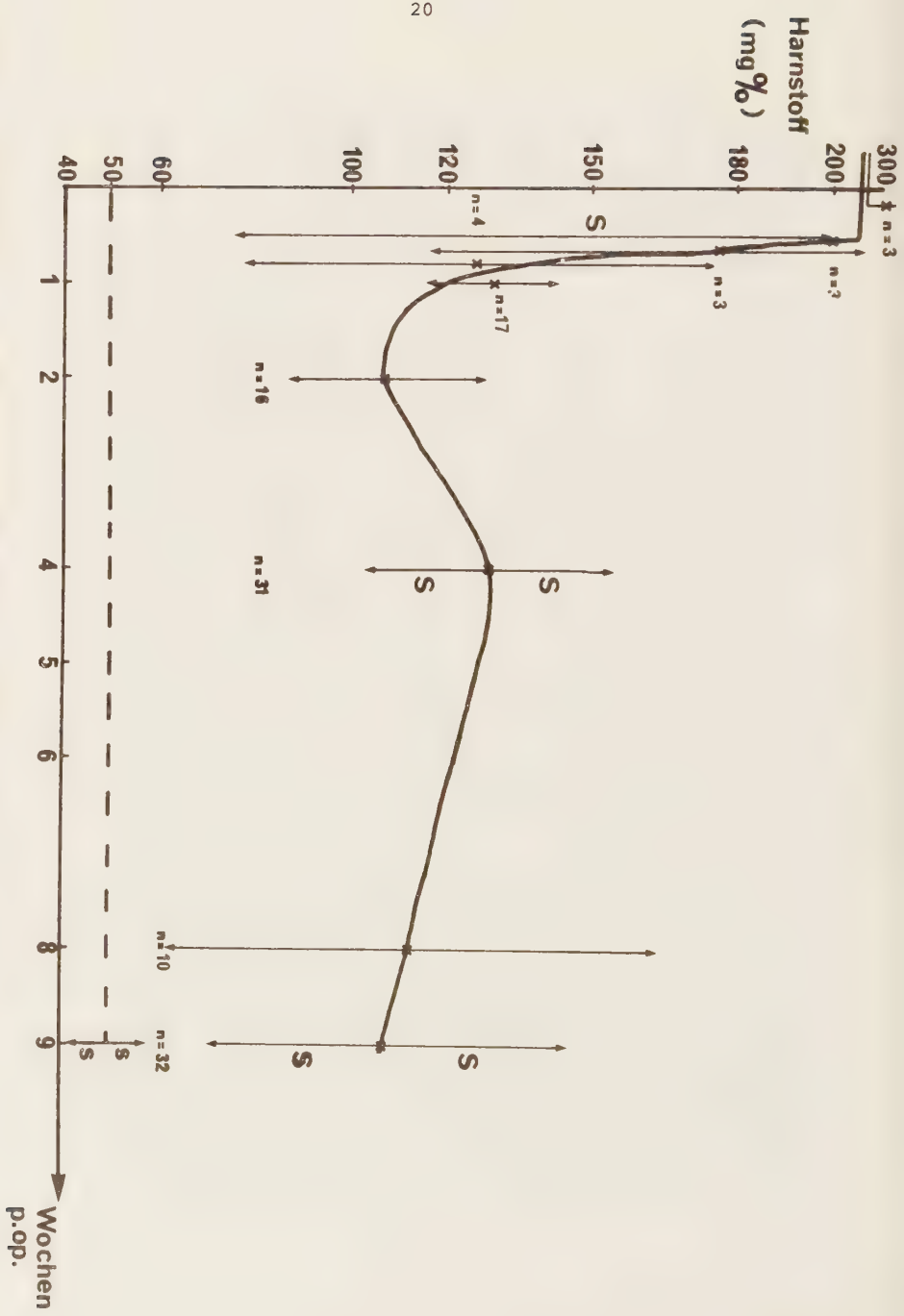


Abb.: 4 Versuch A Harnstoffverlaufskurve Niereninsuffiziente Tiere: durchgezogene Linie; Mittelwerte mit Standardabweichungen (s) Kontrollen: gestrichelt + n

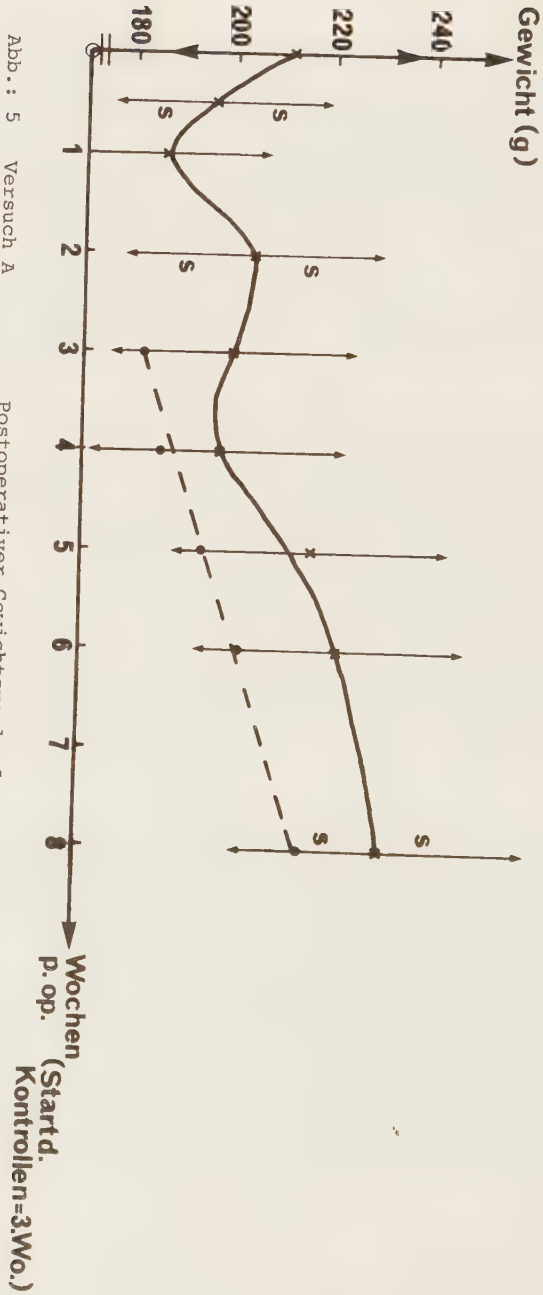
sonders starke Zunahme der Retentionswerte aufwiesen. Dieser Effekt ist auf zusätzliche bzw. sekundäre Destruktionen des Nierenparenchyms infolge entzündlicher, z.T. pyelonephritischer und abszedierender Nierenveränderungen zurückzuführen (vgl. Abschn. 3.2.), die sich nach Ablauf mehrerer Wochen p.op. manifestieren (vgl. auch Romen und Heine 1972). Entsprechend dem bei Versuchsende nur noch etwa auf den doppelten Kontrollwert erhöhten mittleren Serumharnstoffspiegel zeigte der mittlere Serumkreatininwert bei Versuchsende mit  $1,31 \pm 0,3$  mg% gegenüber einem Kontrollwert von  $0,9 \pm 0,1$  mg% eine zwar statistisch signifikante, aber nur geringgradige Erhöhung.

Körpergewichte: Wie die Verlaufskurve in Abb. 5 zeigt, verloren die nierenresezierten Ratten in der ersten Woche p. op. etwa 12% ihres Ausgangsgewichtes. Bei einigen besonders stark abnehmenden Tieren wurde deshalb eine zusätzliche Sondennahrung zugeführt. In der 5. Woche p.op. erreichten die nierenresezierten Tiere wieder ihr mittleres Ausgangsgewicht; anschließend nahm in den letzten 4 Wochen des Versuchs das Gewicht in gleicher Weise wie bei den Kontrolltieren zu, wobei die mittlere Gewichtszunahme bei den niereninsuffizienten Tieren etwa 18%, bei den Kontrolltieren etwa 16% betrug.

### 3.1.2. Versuch B

Von den 14 in dieser Versuchsserie 5/6 nierenresezierten Ratten erreichten nur 5 das Versuchsende nach der zweiten Operation. 4 Tiere starben nach der ersten Nierenresektion im Zeitraum bis zu 36 Tagen p.op.. Im Anschluß an die 7 Wochen nach der ersten Operation durchgeführte Nachresektion (2/3 der Restniere) starben weitere 4 Tiere bis zum 12. Tag p.op. am Nierenversagen.

Harnstoffkontrollen: Der mittlere Harnstoffwert im Serum lag bei den niereninsuffizienten Tieren unmittelbar vor der zweiten Operation bei  $105 \pm 9,5$  mg%, nachdem er zuvor einen



gleichartigen Verlauf gezeigt hatte wie im Versuch A. Nach der zweiten Nierenresektion lag der mittlere Harnstoffwert nach anfänglich steilem Anstieg bei  $201 \pm 44$  mg%, um sich etwa vom 9. Tag p.op. an bis zum Versuchsende bei etwa 130 mg% einzupendeln. Die Steigerung des mittleren Harnstoffretentionswertes durch die zweite Resektion betrug etwa 23%.

Körpergewicht: Das mittlere Körpergewicht verhielt sich etwa gleichartig wie auch in Versuch A, d.h. nach anfänglichem Gewichtsabfall wurde etwa in der 5. Woche nach der ersten Operation das Ausgangs- bzw. Kontrollgewicht wieder erreicht. Nach der zweiten Operation kam es zu einem erneuten Absinken des mittleren Gewichtes um etwa 25%; bei Versuchsende lag das Durchschnittsgewicht trotz Sondenfütterung und trotz eines zwischenzeitlichen Wiederanstiegs noch etwa 13% unter dem Gewicht der Kontrolltiere (vgl. Abb. 6).

### 3.2. Makroskopische und mikroskopische Befunde:

Die nierenresezierten Tiere wiesen abgesehen von den Operationsfolgen keine auffälligen makroskopisch erkennbaren Organveränderungen auf, insbesondere ergab sich kein Anhalt für eine vermehrte Flüssigkeitseinlagerung im Unterhautgewebe oder in parenchymatösen Organen und Schleimhäuten.

Die Restnieren wiesen eine ausgeprägte Hypertrophie auf, wobei das durchschnittliche Gewicht der resezierten Nieren bei Versuchsende mit  $1,02 \pm 0,05$  g gegenüber normalen Nieren um rund 25% vermehrt war. Histologisch fand sich dabei eine deutliche Hyperplasie des tubulären Systems außerdem wurden in den resezierten Nieren ausgeprägte pyelonephritische Veränderungen, z.T. auch mit abszedierender Entzündung festgestellt (s. Abb. 7).

Der Magen-Darmtrakt zeigte makroskopisch keine auffälligen Veränderungen, insbesondere konnten keine Blutungen festgestellt werden.

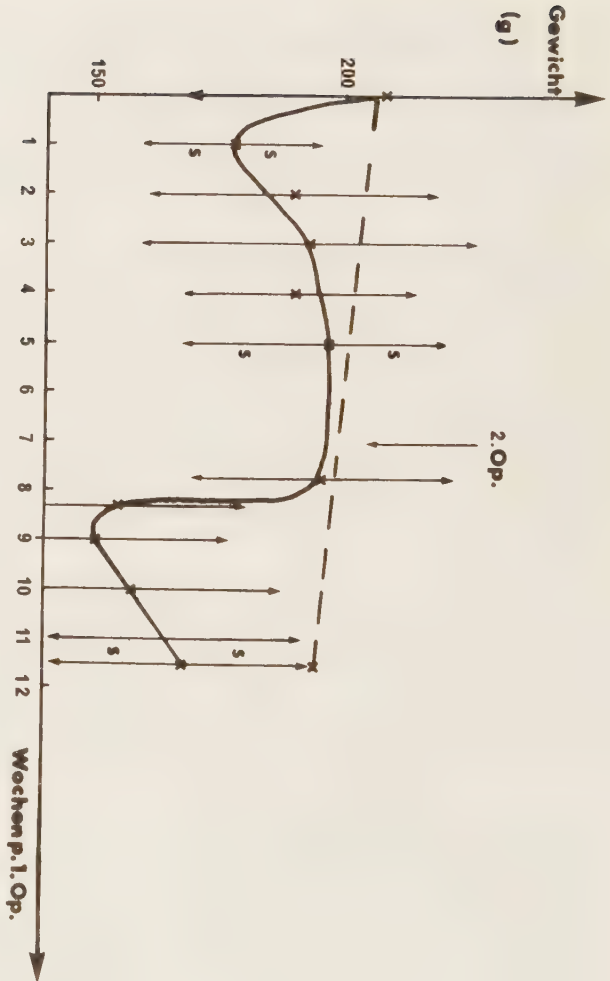


Abb.: 6

Versuch B Postoperativer Gewichtsverlauf

Mittelwerte mit Standardabweichungen (s);

Niereninsuffiziente Tiere: durchgezogene Linie

Kontrollen: gestrichelte Linie

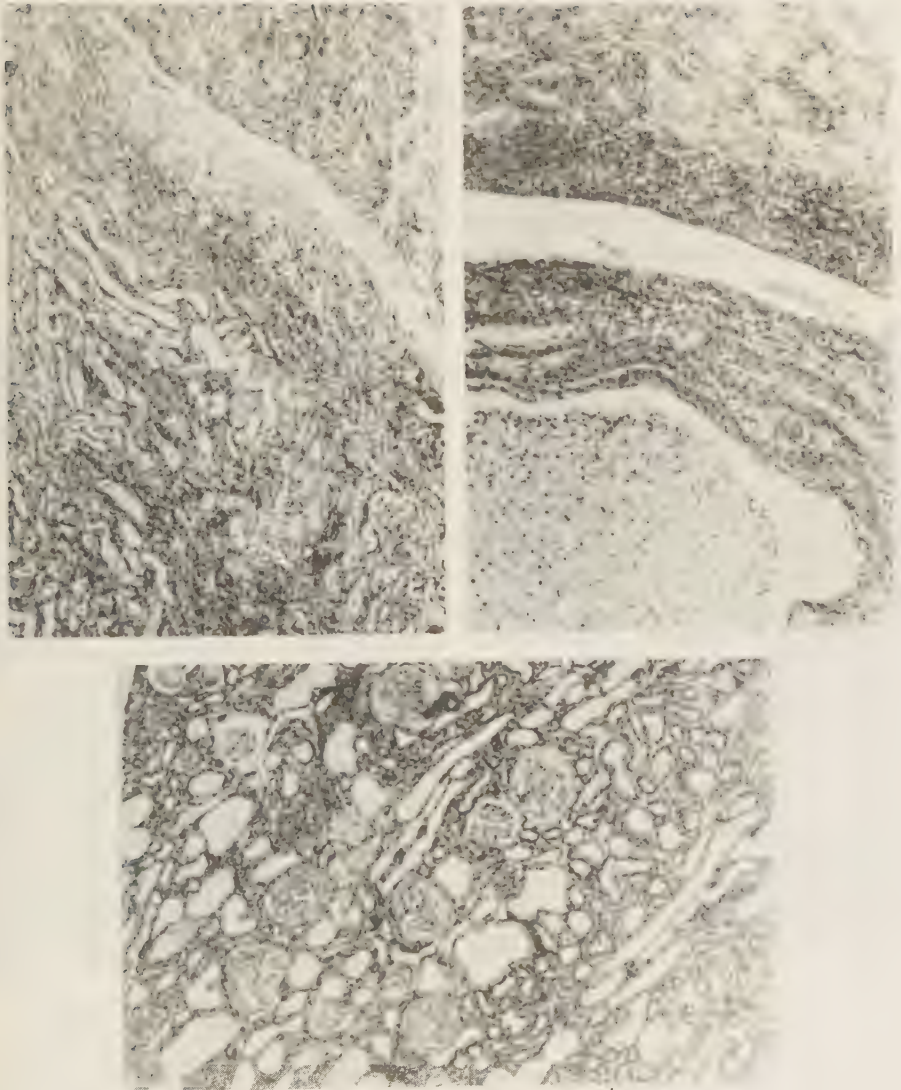


Abb.: 7 Chronische Pyelonephritis der Restniere  
 Oben links: Im Randgebiet der Resektion Fremdkörper-  
 Granulom (Vergr. ca. 144x)  
 Oben rechts: Chronische Pyelitis (Vergr. ca. 360x)  
 Unten: Im Bereich der Rinde mit hyalinisierten Glomeruli  
 (Vergr. ca. 144x)

### 3.3. Histologische und fermenthistochemische Untersuchungsbefunde

3.3.1. Histologisch war die Darmschleimhaut in allen untersuchten Abschnitten intakt, erosive oder ulceröse Veränderungen konnten nicht nachgewiesen werden. Bei mikroskopischer Untersuchung fiel bei einigen Tieren lediglich eine vermehrte Rundzellinfiltration der Lamina propria der Darmschleimhaut auf, wobei es sich überwiegend um Lymphocyten handelte. Auch in der oberflächigen Epithelzellreihe waren vermehrt lymphoide Zellen erkennbar, die intercellulär in basalen Epithelzellabschnitten lagen. Durch eine vergleichende Auszählung des Zellinfiltrats in der Lamina propria und der Epithelzellreihe der Darmschleimhaut wurde dieser Befund objektiviert (vgl. Abschn. 3.4.7.).

Bei einzelnen Tieren mit vergleichsweise hohen Harnstoffwerten konnten auffällige Gefäßveränderungen im Bereich von darmnahen Anteilen des Mesenterialfettgewebes und herdförmig auch der Submucosa beobachtet werden. Dabei fanden sich gering PAS-positive Intima- und Medianekrosen mit Fibrinablagerungen und eine ausgeprägte chronisch granulierende Entzündung besonders im Bereich der äußeren Wandschichten und der Adventitia. Diese Veränderungen entsprechen einer Panarteriitis (s. Abb. 8).

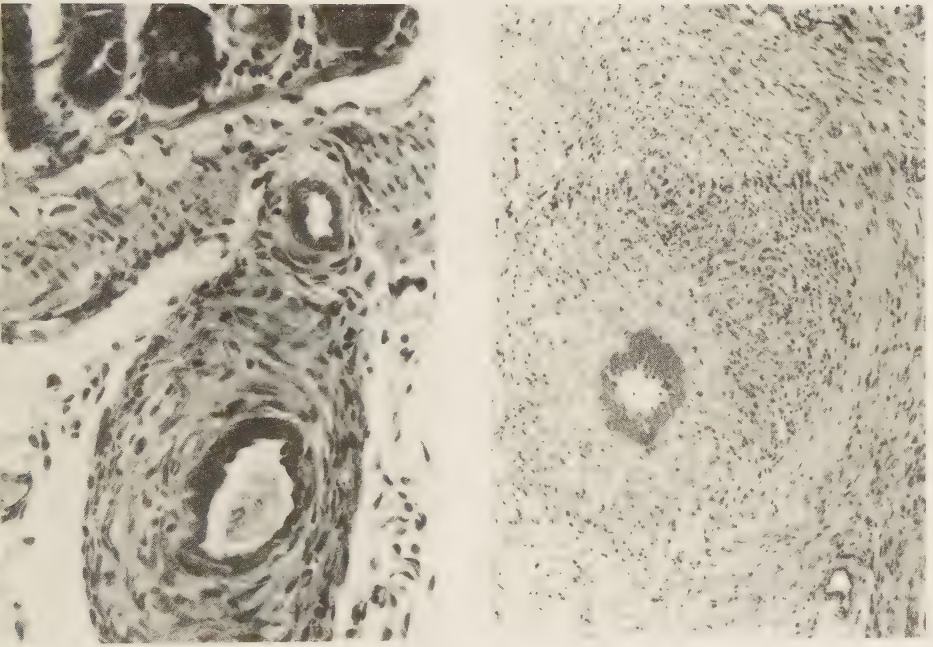


Abb.: 8 Panarteriitische Veränderungen an Arterien und Arteriolen in Submucosa (links; Vergr. ca. 900x) und mesenterialem Fettgewebe (rechts; Vergr. ca. 360x)

3.3.2. Fermenthistochemisch konnten keine Defekte und keine verminderte Aktivität der alkalischen Bürstensaumphosphatase bei den niereninsuffizienten Tieren gegenüber den Kontrolltieren festgestellt werden.

#### 3.4. Proliferationskinetische Befunde:

##### Versuch A:

##### 3.4.1. %-markierte-Mitosen-Methode:

Die aus diesem Versuch (vgl. Methodik) gewonnenen %-markierte-Mitosen-Kurven sämtlicher untersuchter Darmabschnitte sind in den Abb. 9 - 13 im Vergleich der niereninsuffizienten Versuchstiere zu den Kontrolltieren dargestellt. Die aus diesen Kurven abgelesenen mittleren Zeiten des Generationscyclus ( $T_S$ ,  $T_C$ ,  $T_{G2} + T_M$ ,  $T_{G1}$ ) sind in Tab. 1 aufgeführt.

| Darmabschnitt | $T_{S*}$ |     | $T_{C*}$ |      | $T_{G2} + T_{M*}$ |     | $T_{G1}$                       |               | $T_{C**}$ |                |
|---------------|----------|-----|----------|------|-------------------|-----|--------------------------------|---------------|-----------|----------------|
|               | K        | U   | K        | U    | K                 | U   | K                              | U             | K         | U              |
|               |          |     |          |      |                   |     | $= T_C - (T_S + T_{G2} + T_M)$ |               |           |                |
| Duo           | 5,6      | 6,0 | 11,0     | 11,7 | 2,0               | 1,9 | 3,5                            | 3,9<br>(+11%) | 10,5      | 11,7<br>(+11%) |
|               |          |     |          |      | ca.               |     |                                |               |           |                |
| Jeju          | 5,8      | 6,4 | 10,6     | 11,1 | 2,0               | 2,0 | 2,8                            | 2,6           | 10,7      | 12,7<br>(+19%) |
|               |          |     |          |      | ca.               |     |                                |               |           |                |
| Ile           | 6,4      | 6,7 | 12,0     | 11,8 | 2,0               | 1,9 | 3,6                            | 3,1           | 11,4      | 14,5<br>(+27%) |
|               |          |     |          |      | ca.               |     |                                |               |           |                |
| Col.asc.      | 8,0      | 7,8 | -        | -    | 1,9               | 2,1 | (21,1                          | 25,8)         | 32,3      | 35,6<br>(+10%) |
|               |          |     |          |      | ca.               |     |                                | **            |           |                |
| Col.desc.     | 7,9      | 7,7 | -        | -    | 2,0               | 1,9 | (15,3                          | 14,8)         | 24,6      | 24,4           |
|               |          |     |          |      | ca.               |     |                                | **            |           |                |

## Versuch A

Tab. 1: Generationszeiten in Std., chronisch niereninsuffizienter Ratten (U) im Vergleich zu Kontrolltieren (K).

\* Abgelesen aus 8-markierte-Mitosen Kurven ( $n_u=29$ ;  $n_k=29$ )

\*\*  $T_C$  hier mittels Markierungs-Index<sub>Korr.</sub> berechnet ( $n_u=3$ ;  $n_k=4$ )

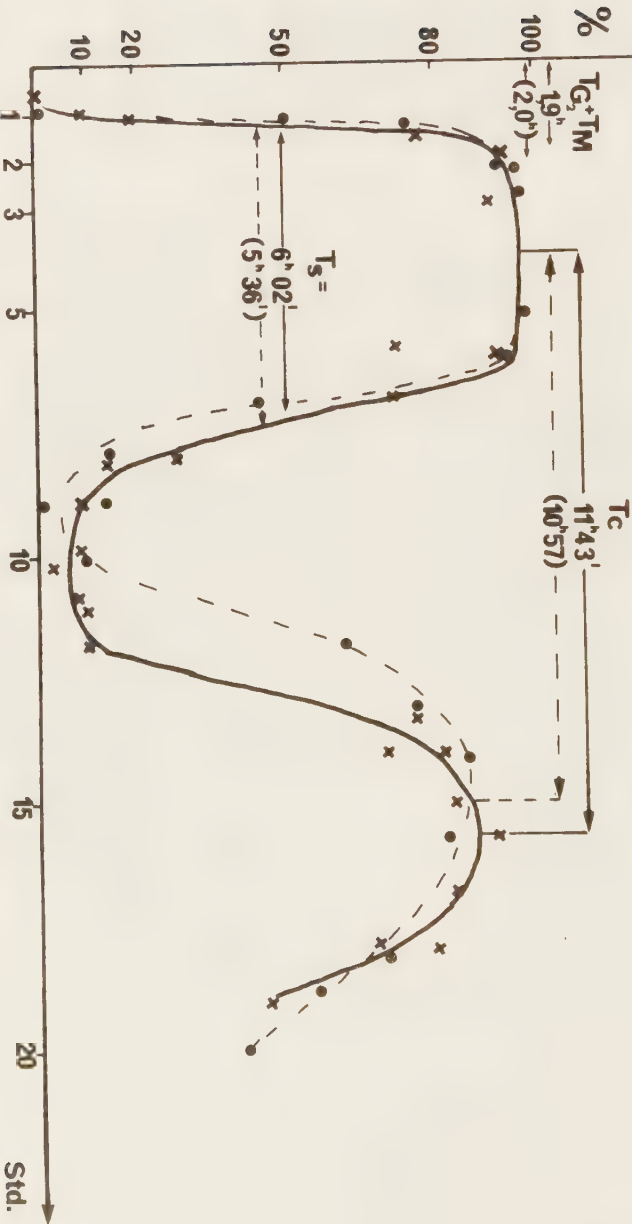


Abb.: 9

Versuch A % markierte Mitosen-Kurve

DUODENUM

Niereninsuffiziente Tiere: Durchgezogene Kurve, x = Einzelwert, . = Einzelwert, Zeiten oben

Kontrollen: Gestrichelte Kurve, . = Einzelwert, Zeiten unten

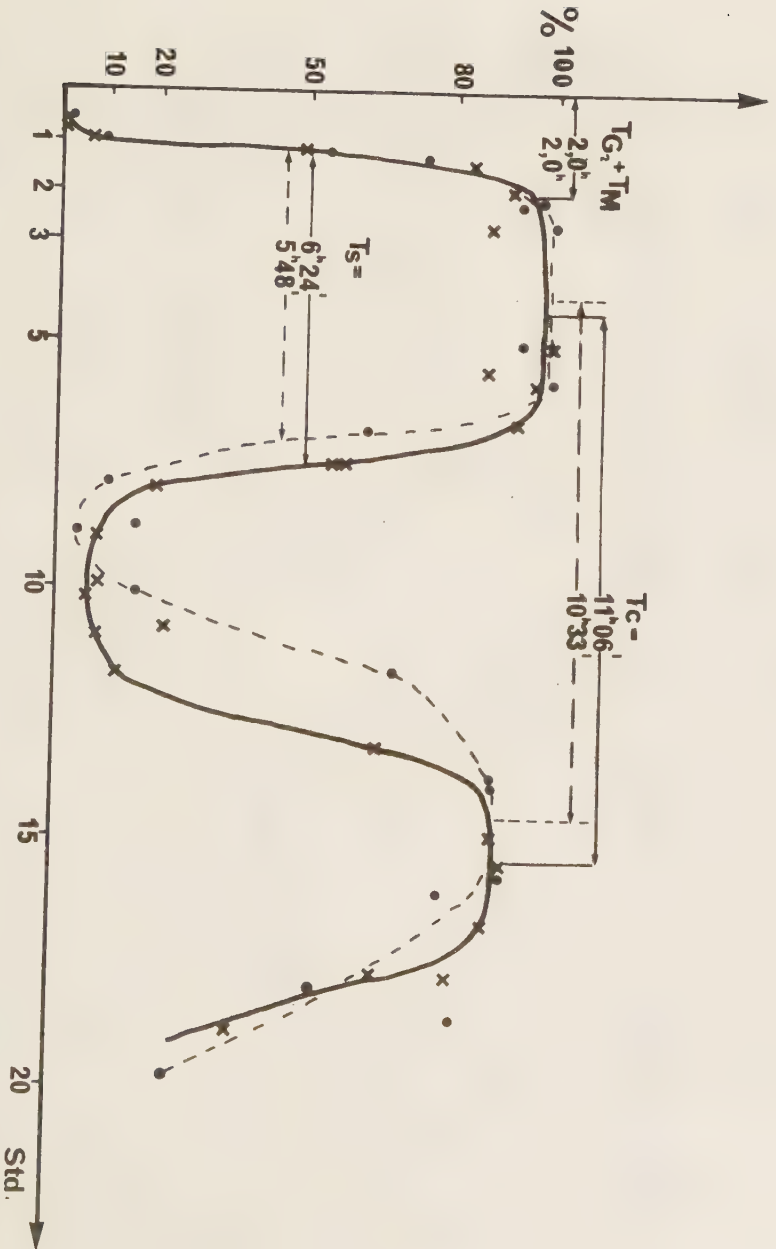


Abb.: 10

Versuch A % markierte Mitosen-Kurve JEJUNUM

Niereninsuffiziente Tiere: Durchgezogene Kurve, x = Einzelwert, Zeiten oben

Kontrollen: Gestrichelte Kurve, : = Einzelwert, Zeiten unten

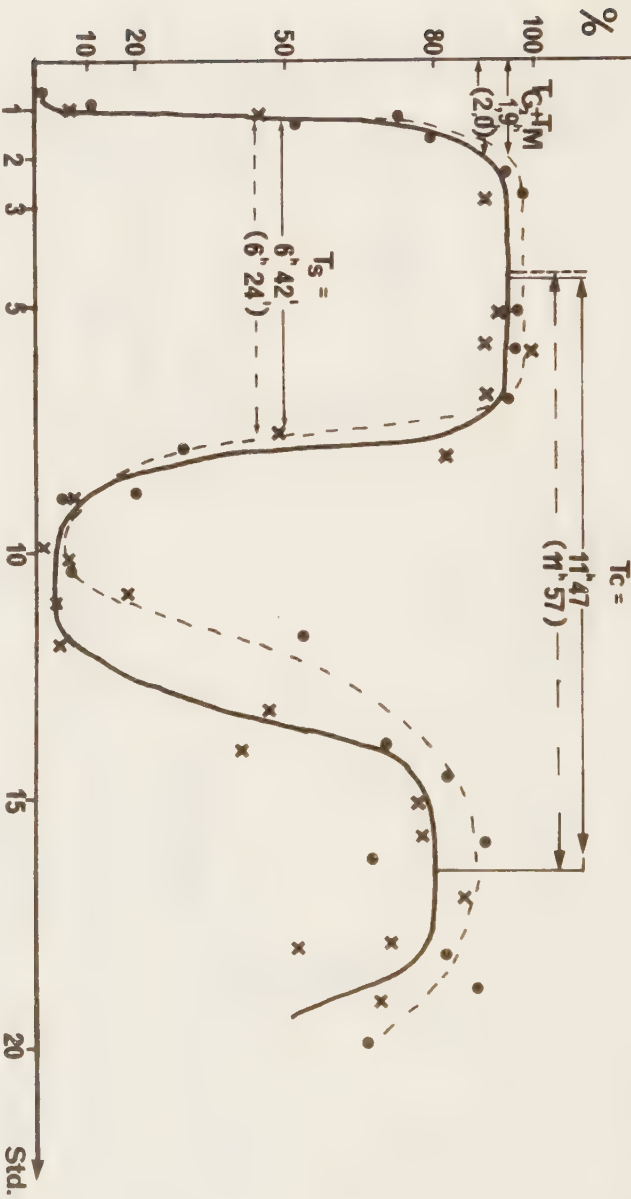


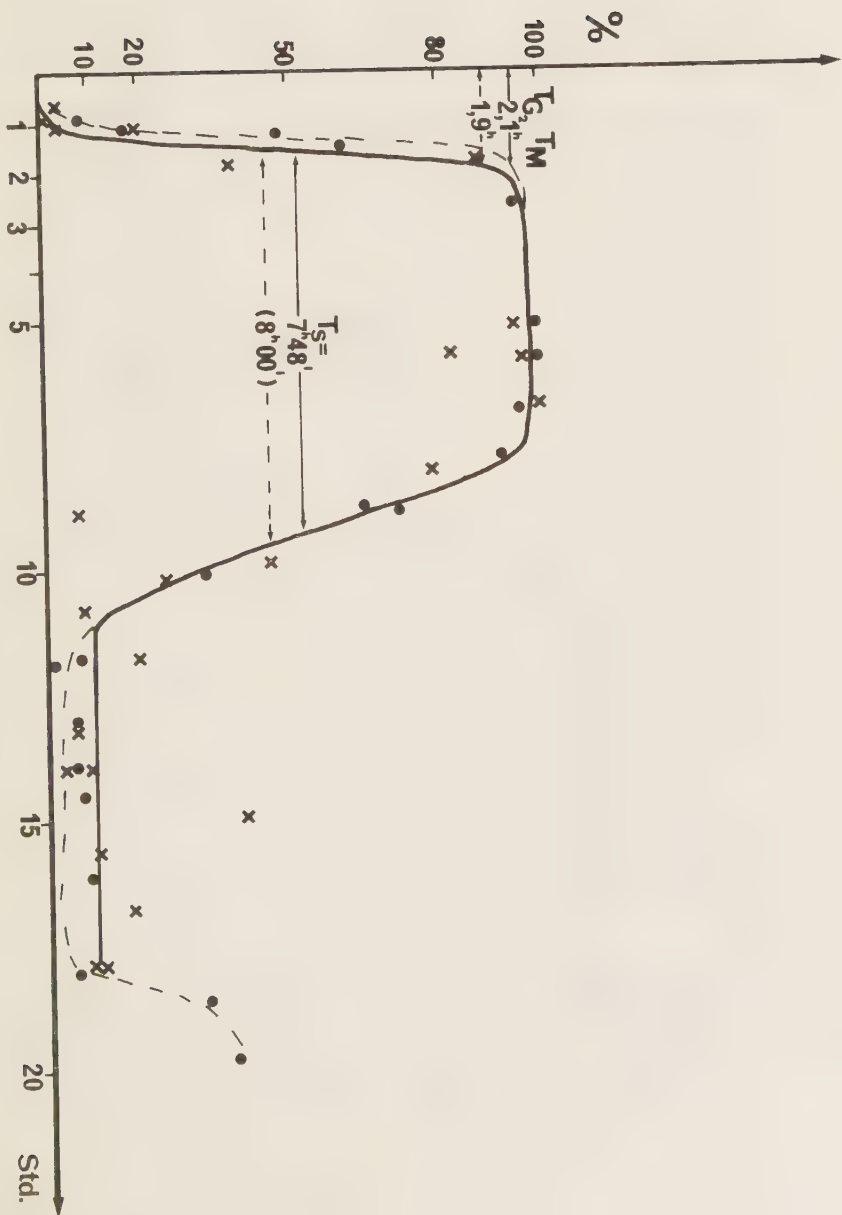
Abb.: 11

Versuch A

% markierte Mitosen-Kurve

ILEUM

Niereninsuffiziente Tiere: Durchgezogene Kurve, x = Einzelwert, Zeiten oben  
 Kontrollen: Gestrichelte Kurve, . = Einzelwert, Zeiten unten



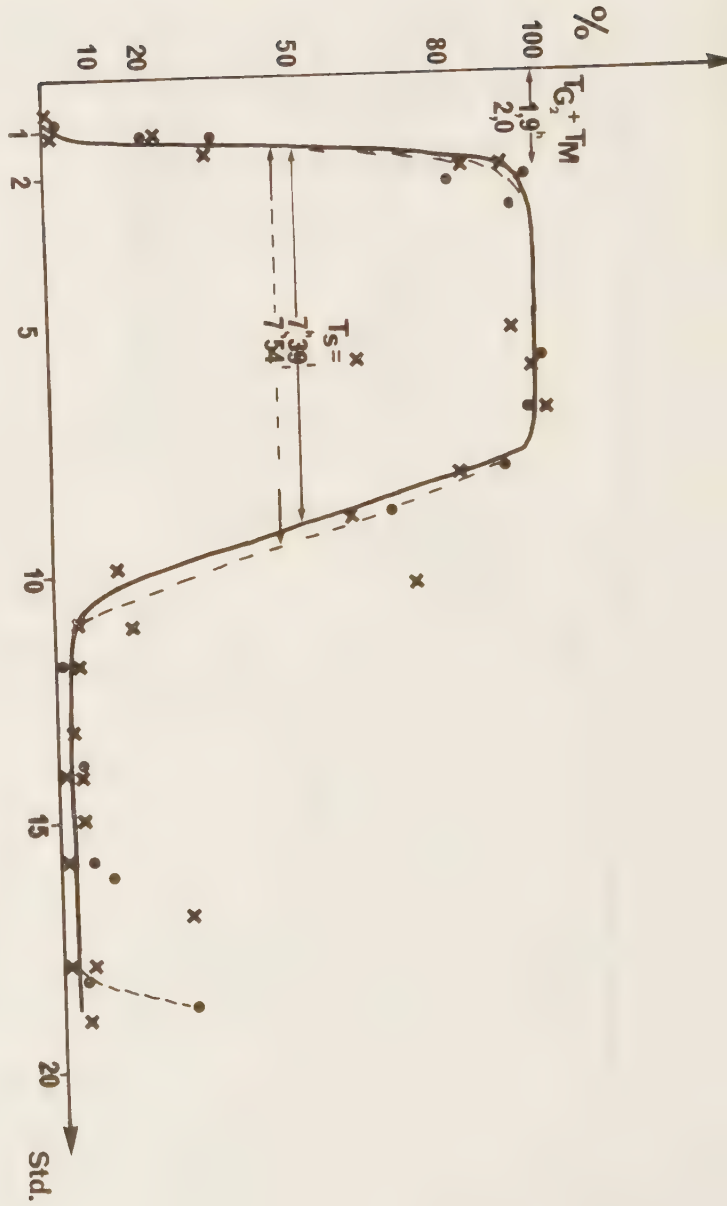


Abb.: 13 Versuch A % markierte Mitosen-Kurve COLON DESCENDENS  
 Niereninsuffiziente Tiere: Durchgezogene Kurve, x = Einzelwerte, Zeiten oben  
 Kontrollen: Gestrichelte Kurve, • = Einzelwerte, Zeiten unten

Dabei zeigt sich, daß es unter den Bedingungen der vorliegenden Untersuchung nur zu relativ geringen Verlängerungen des Generationscyclus und/oder einzelner Teilphasen gekommen ist.

Dünndarm: Es finden sich eine Verlängerung der Generationszeit ( $T_C$ ) von 0,7 Std. im Duodenum und von 0,5 Std. im Jejunum. Die Dauer der DNS-Synthesephase ( $T_S$ ), abgelesen aus dem Abstand des auf- und absteigenden Kurvenschenkels der ersten Kurvenwelle auf dem 50%-Niveau, ist dabei im Duodenum um 0,4 Std., im Jejunum um 0,6 Std., im Ileum um 0,3 Std. verlängert. Da die Zeitdauer der prämitotischen Ruhephase und der Mitose ( $T_{G2}+T_M$ ) bei den niereninsuffizienten Tieren offensichtlich gleich bleibt wie der %-markierte-Mitosen-Kurvenverlauf zeigt, läßt sich berechnen, daß die postmitotische Ruhephase ( $T_{G1}$ ) mit nur geringen Schwankungen etwa gleich bleibt, d.h. die nur geringgradigen Verlängerungen der Generationszeit gehen im wesentlichen auf eine Verlängerung der DNS-Synthesezeit zurück.

Bei einem Vergleich zwischen den %-markierte-Mitosen-Kurven der Kontroll- und der niereninsuffizienten Tiere fällt auf, daß die zweite Kurvenwelle, die durch den wiederholten Durchgang markierter Zellkerne durch die Mitose hervorgerufen wird, bei den niereninsuffizienten Tieren schmaler ist und der ansteigende wie auch der absteigende Kurvenschenkel steiler verläuft. Die normalerweise gegenüber der ersten Kurvenwelle auftretende Verbreiterung und Abflachung der zweiten Kurvenwelle wird auf die biologischen Schwankungen der Generationszeiten zurückgeführt. Daher könnte der vorliegende Befund auf eine stärker-gradige Synchronisation der regenerierenden Zellpopulation in der Niereninsuffizienz hindeuten.

Dickdarm: Die DNS-Synthesezeiten im Colon ascendens und descendens bleiben gegenüber den Kontrollen bei den niereninsuffizienten Tieren praktisch gleich. Wegen der insgesamt längeren Generationszeiten im Dickdarmschleimhautepithel

wird eine zweite Kurvenwelle in dem hier verfolgten Versuchszeitraum von 20 Std. nicht erreicht. Daher muß die Gesamtcyclisdauer ( $T_C$ ) aus der DNS-Synthesezeit und dem korrigierten  $^3\text{H}$ -Markierungsindex berechnet werden. Die entsprechenden Werte sind in Tab. 1 aufgeführt. Dabei zeigt sich zumindest im Colon ascendens eine Zunahme von  $T_C$  um 3,3 Std. bzw. 10%. Diese Verlängerung geht auf eine Ausdehnung besonders der postmitotischen  $G_1$ -Phase zurück.

### 3.4.2. $^3\text{H}$ -Markierungsindex: (Tab. 2)

Das Verhältnis markierter Zellen zur Gesamtzellzahl der Regenerationszone (= korrigierter  $^3\text{H}$ -Markierungsindex) zeigt beim Vergleich zwischen niereninsuffizienten und Kontrolltieren nur im Duodenum und im Colon descendens keine Veränderungen; im Ileum ist die Verringerung des Index statistisch signifikant, in den übrigen Darmabschnitten geringer.

Die Bestimmung des Markierungsindex im Dickdarm, besonders im Colon descendens, ist problematisch, da nur sehr wenige markierte Zellen pro Krypte zu beobachten sind und so eine exakte Abgrenzung der Regenerationszone nach oben nicht möglich ist.

Die Werte des Gesamtmarkierungsindex (bezogen auf die Gesamtzellzahl der ganzen Krypte) zeigen etwa das gleiche Ergebnis mit signifikantem Unterschied nur im Ileum. Zur Berechnung von  $T_C$  wurde allerdings nur der auf die Regenerationszone bezogene korrigierte Index herangezogen, da die Epithelzellen im Kryptenabschnitt oberhalb der Regenerationszone an der Zellvermehrung nicht mehr teilnehmen. Die mit dem korrigierten Index und den aus den  $\%$ -markierten Mitosen-Kurven erhaltenen DNS-Synthesezeiten berechneten Generationszeiten ( $T_C$ ) sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Sie zeigen eine deutlichere Verlängerung von  $T_C$  als dies aus den Kurven zu entnehmen war. Vor allem im Jejunum (+2,0 Std.) und im Ileum (+3,1 Std.) ist sie beträchtlich. Was die Unterschiede zwischen den Zeiten der aus den  $\%$ -markierten Mitosen-Kurven abgelesenen Werten und den mit Hilfe des  $^3\text{H}$ -Mar-

| Sam-<br>bschnitt      | <sup>3</sup> H-Markierungs-Index<br>korr. |                      | Mitose-Index<br>korr. |                       | Regenerationszone/<br>Krypte |                       | Zellzahl pro<br>Kryptenreihe |                        | Zellzahl pro Zotten-<br>reihe |                        | Zellzahl der<br>Gesamtschleimhaut |   |
|-----------------------|-------------------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------------------|---|
|                       | K                                         | U                    | K                     | U                     | K                            | U                     | K                            | U                      | K                             | U                      | K                                 | U |
| 53,2 <sup>±</sup> 8,1 | 50,2 <sup>±</sup> 4,7                     | 4,8 <sup>±</sup> 1,3 | 4,8 <sup>±</sup> 0,4  | 58,1 <sup>±</sup> 1,9 | 57,9 <sup>±</sup> 2,8        | 44,2 <sup>±</sup> 6,1 | 54,5 <sup>±</sup> 4,8        | 97,3 <sup>±</sup> 6,4  | 116,6 <sup>±</sup> 10,4       | 140,1 <sup>±</sup> 8,6 | 160,4 <sup>±</sup> 2,8            |   |
|                       |                                           |                      |                       |                       |                              |                       | p < 0,05<br>(+23%)           |                        | p < 0,01<br>(+20%)            | p < 0,01<br>(+14%)     |                                   |   |
| 54,2 <sup>±</sup> 4,2 | 50,3 <sup>±</sup> 2,5                     | 5,1 <sup>±</sup> 1,6 | 6,3 <sup>±</sup> 1,9  | 60,1 <sup>±</sup> 2,8 | 59,7 <sup>±</sup> 2,2        | 35,5 <sup>±</sup> 4,1 | 40,2 <sup>±</sup> 2,0        | 71,8 <sup>±</sup> 13,8 | 72,3 <sup>±</sup> 9,1         | 98,2 <sup>±</sup> 16,4 | 105,8 <sup>±</sup> 11,8           |   |
| 55,9 <sup>±</sup> 3,9 | 46,2 <sup>±</sup> 2,8                     | 6,1 <sup>±</sup> 2,7 | 6,2 <sup>±</sup> 0,7  | 63,8 <sup>±</sup> 6,1 | 59,9 <sup>±</sup> 4,0        | 31,7 <sup>±</sup> 3,1 | 31,4 <sup>±</sup> 1,8        | 49,1 <sup>±</sup> 5,1  | 45,0 <sup>±</sup> 8,4         | 81,0 <sup>±</sup> 2,1  | 72,9 <sup>±</sup> 11,7            |   |
|                       | p < 0,01                                  |                      |                       |                       |                              |                       |                              |                        | (-8,5%)                       |                        |                                   |   |
| 24,7 <sup>±</sup> 4,9 | 21,9 <sup>±</sup> 5,6                     | 3,2 <sup>±</sup> 0,7 | 3,8 <sup>±</sup> 0,3  | 59,7 <sup>±</sup> 1,8 | 60,2 <sup>±</sup> 1,1        | 36,5 <sup>±</sup> 7,4 | 46,1 <sup>±</sup> 7,3        | -                      | -                             |                        |                                   |   |
|                       |                                           |                      |                       |                       |                              |                       | (+26%)                       |                        |                               |                        |                                   |   |
| 32,0 <sup>±</sup> 4,0 | 31,2 <sup>±</sup> 3,5                     | 4,7 <sup>±</sup> 1,7 | 4,4 <sup>±</sup> 0,2  | 56,4 <sup>±</sup> 5,4 | 63,0 <sup>±</sup> 6,2        | 48,8 <sup>±</sup> 4,0 | 57,9 <sup>±</sup> 6,9        | -                      | -                             |                        |                                   |   |
|                       |                                           |                      |                       |                       |                              |                       | (+18,5%)                     |                        |                               |                        |                                   |   |

# Versuch A

Tab. 2: Morphometrische und proliferationskinetische Befunde im Darmschleimhautepithel von Ratten mit chronischer Niereninsuffizienz (U) im Vergleich zu Kontrolltieren (K) (Mittelwerte mit Standardabweichung;  $n_u = 3$ ,  $n_k = 4$ ; 10 Krypten pro Darmabschnitt. Bei den Zellzahlen:  $n_u = 5$ ;  $n_k = 5$ )

kierungsindex berechneten Werten betrifft, muß daran erinnert werden, daß der Harnstoffmittelwert der 3 niereninsuffizienten Versuchstiere, die zur Bestimmung des  $^3\text{H}$ -Index herangezogen wurden, mit  $158,3 \pm 70,5 \text{ mg\%}$  eindeutig höher lag als der Mittelwert sämtlicher an der Entstehung der %-markierte-Mitosen-Kurve beteiligter Tiere ( $108,1 \pm 36,2 \text{ mg\%}$ ).

Kasuistisch soll hier auf eines dieser 3 Index-Tiere mit einem Endharnstoffwert von  $238 \text{ mg\%}$  hingewiesen werden, dessen korrigierter  $^3\text{H}$ -Markierungs-Index mit  $47,0\%$  im Duodenum um über  $6\%$  niedriger liegt als der Kontrollmittelwert ( $53,2 \pm 8,1\%$ ); im Ileum mit  $44,2\%$  sogar um  $12\%$  niedriger (Kontrollen:  $55,9 \pm 3,9 \text{ mg\%}$ ). Für dieses Tier ergibt sich bei individueller Berechnung eine Generationszeit von  $T_C = 15,1 \text{ Std.}$  (Kontrollen:  $11,4 \text{ Std.}$ ) im Ileum.

#### 3.4.3. Mitoseindex (Tab. 2)

Die Mittelwerte in den verschiedenen Darmabschnitten zeigen jeweils eine starke Streuung; erkennbare Mittelwertsunterschiede ergeben sich nicht.

Ein statistisch signifikanter Unterschied läßt sich auch bei dem oben erwähnten Tier mit ausgeprägt hohem Endharnstoffwert nicht nachweisen, obwohl hier eine Verringerung vorliegt.

#### 3.4.4. Zellzahl in Krypte und Regenerationszone:

Die durch Zählung bestimmte Epithelzellzahl in den beiden seitlichen Zellreihen einer Krypte ergibt eine deutliche Zellvermehrung bei den niereninsuffizienten Tiere. Dabei sind sämtliche Darmabschnitte mit abnehmender Tendenz vom Duodenum zum Ileum betroffen; im Ileum ist keine Veränderung mehr erkennbar (vgl. Tab. 2). Die Epithelzellvermehrung ließ sich dabei sowohl im Bereich der Regenerationszone als auch in dem darüberliegenden Kryptenanteil, in dem die Ausdifferenzierung der aus der Krypte auswandernden Epithelzel-

len stattfindet, nachweisen. Eine überproportionale Zunahme der Regenerationszone auf Kosten der Differenzierungszone ist somit nicht erkennbar (Tab.: 2).

Diese Veränderungen lassen sich durch die Messungen mit dem Meßokular nur viel unschärfer nachweisen, wahrscheinlich deshalb, weil die Messung bereits durch geringe Störfaktoren, wie z.B. leichte Dehnungsartefakte in ihrer Genauigkeit erheblich beeinträchtigt werden.

#### 3.4.5. Zellzählung und Messung der Zotten (Tab.: 2):

Die durch Zellzählung in einer Epithelreihe bestimmte Zottenhöhe zeigt eine statistisch signifikante Vergrößerung nur im Duodenum, wo sie auch durch Messung nachgewiesen werden kann. Im Jejunum dagegen ergeben sich keine verwertbaren Veränderungen; das Ileum zeigt eine leichte Verringerung der Zottenzellzahl. Für die Gesamtschleimhaut (vgl. Tab. 2 u. 3) läßt sich durch Zellzählung und Messung nur im Duodenum eine deutliche Zunahme nachweisen, im Jejunum und Ileum zeigen sich keine Veränderungen. Entsprechend der Kryptenzellvermehrung ist die Schleimhaut im Colon ascendens und descendens verbreitert.

| Darm-<br>abschnitt | Krypte                  |                         | Zotte                     |                           | Schleimhaut             |                          |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                    | K                       | U                       | K                         | U                         | K                       | U                        |
| Duo                | 289 $\pm$ 8,9<br>n = 3  | 318 $\pm$ 24,0<br>n = 4 | 558 $\pm$ 24,0<br>n = 2   | 622 $\pm$ 51,6<br>n = 4   | 821 $\pm$ 48,0<br>n = 3 | 940 $\pm$ 73,8<br>n = 4  |
| Jeju               | 183 $\pm$ 8,7<br>n = 6  | 193 $\pm$ 49,2<br>n = 6 | 445 $\pm$ 86<br>n = 6     | 409 $\pm$ 48,4<br>n = 6   | 627 $\pm$ 92,8<br>n = 6 | 603 $\pm$ 78,8<br>n = 6  |
| Ile                | 182 $\pm$ 17,7<br>n = 6 | 138 $\pm$ 56,5<br>n = 5 | 277,8 $\pm$ 25,8<br>n = 6 | 278,6 $\pm$ 76,7<br>n = 5 | 444 $\pm$ 10,7<br>n = 5 | 430 $\pm$ 133,0<br>n = 4 |

Tab. 3: Versuch A

Messung von Krypte, Zotte und Schleimhaut [ $\mu$ ] bei chron. nieren-  
insuffizienten Ratten (U) und Kontrolltieren (K).  
Gemessen: je 10 Krypten und Zotten.

### 3.4.6. Wanderung $^3\text{H}$ -markierter Epithelzellen auf der Zotte (Tab. 4):

Durch Messung in unterschiedlichen Zeitabständen nach einmaliger Thymidin-Injektion wurde die von der führenden  $^3\text{H}$ -markierten Epithelzelle auf der Zotte erreichte Höhe bestimmt. Dabei wurden 6 verschiedene Zeitintervalle nach Thymidin-Injektion, und zwar zwischen 10 und 19 Std., berücksichtigt.

Für alle drei Dünndarmabschnitte wurde aus dem pro Zeiteinheit durchwanderten Zottenanteil errechnet, wie lang die gesamte Wanderungszeit der führenden  $^3\text{H}$ -markierten Zelle für die Strecke zwischen der oberen Grenze der Regenerationszone (vgl. Tab. 2) und der Zottenspitze war. Dabei ergibt ein Vergleich zwischen Kontroll- und Versuchstieren im Duodenum mit 49 Std. kaum eine Veränderung, zum Ileum hin jedoch eine deutlich zunehmende Verzögerung der gesamten Wanderungszeit um etwa 16 Std. Die Kontrollwerte von etwa 48 Std. stimmen dabei gut mit den von Löhrs (1972) angegebenen Werten überein.

Auch wenn diese Zeitwerte infolge des relativ kurzen Beobachtungszeitraumes von nur 19 Std. ungenau bleiben müssen, so deuten sie dennoch auf eine Wanderungsverzögerung bei den niereninsuffizienten Tieren hin. Daraus folgt, daß bei gleichbleibender Zottenhöhe die Zellen an der Zottenspitze älter werden als bei gesunden Kontrolltieren. Daneben wurde noch jeweils die Wanderungsgeschwindigkeit der differenzierten Enterocyten berechnet, indem die in einem definierten Zeitintervall von der führenden  $^3\text{H}$ -markierten Epithelzelle auf der Zotte durchlaufene Strecke gemessen wurde (vgl. Tab. 5). Dabei zeigt sich, daß schon normalerweise die Wanderungsgeschwindigkeit von  $13,6 \pm 1,6 \mu/\text{Std.}$  im Duodenum auf  $7,4 \pm 1,1 \mu/\text{Std.}$  im Ileum abnimmt. Die nierenrezezierten Tiere zeigen im Duodenum keine Veränderung, im Jejunum eine Abnahme gegenüber dem Kontrollmittelwert um 17% und im Ileum um 38%.

| Std.<br>post inj.                                        | K   |                 |      |                       |     |                       | U   |                       |      |                       |     |                       |
|----------------------------------------------------------|-----|-----------------|------|-----------------------|-----|-----------------------|-----|-----------------------|------|-----------------------|-----|-----------------------|
|                                                          | Duo |                 | Jeju |                       | Ile |                       | Duo |                       | Jeju |                       | Ile |                       |
|                                                          | 1   | 2               | 1    | 2                     | 1   | 2                     | 1   | 2                     | 1    | 2                     | 1   | 2                     |
| 19                                                       | 39% | 49 <sup>h</sup> | 36%  | 53 <sup>h</sup>       | 42% | 45 <sup>h</sup>       | -   | -                     | 36%  | 53 <sup>h</sup>       | 33% | 58 <sup>h</sup>       |
| 18                                                       | -   | -               | 41%  | 44 <sup>h</sup>       | 39% | 46 <sup>h</sup>       | 35% | 51 <sup>h</sup>       | 27%  | 67 <sup>h</sup>       | 27% | 67 <sup>h</sup>       |
| 16                                                       | -   | -               | 35%  | 46 <sup>h</sup>       | 33% | 49 <sup>h</sup>       | 32% | 50 <sup>h</sup>       | -    | -                     | -   | -                     |
| $\mu$ 15 <sup>45</sup>                                   | -   | -               | 31%  | 52 <sup>h</sup>       | -   | -                     | -   | -                     | -    | -                     | -   | -                     |
| Mittelwerte<br>der Gesamt-<br>wanderungs-<br>zeit [Std.] |     | 49 <sup>h</sup> |      | 48,7 <sup>±</sup> 5,1 |     | 46,6-3,7 <sup>+</sup> |     | 50,5 <sup>±</sup> 0,7 |      | 60,6 <sup>±</sup> 7,9 |     | 62,5 <sup>±</sup> 6,3 |

Tab. 4: Wanderungszeiten im Dünndarm

Spalte 1: Anteile der — zurückgelegten Strecke an der Gesamtwanderungsstrecke in %

Spalte 2: Errechnete Gesamtwanderungszeit bis zur Zottenspitze in Std.

Kontrollen: K; niereninsuffiziente Tiere: U

|   | Duo                     | Jeju                             | Ile                                |
|---|-------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| K | 13,6 $\pm$ 1,6<br>n = 2 | 10,8 $\pm$ 0,4<br>n = 6          | 7,4 $\pm$ 1,1<br>n = 3<br>p < 0,05 |
| U | 14,0 $\pm$ 1,8<br>n = 2 | 9,0 $\pm$ 2,6<br>(-17%)<br>n = 4 | 4,6 $\pm$ 1,1<br>(-38%)<br>n = 2   |

Tab. 5: Wanderungsgeschwindigkeit [ $\mu$ /Std]  $^3\text{H}$ -markierter  
Enterocyten bei Kontroll- (K) und chronisch nieren-  
insuffizienten Tieren (U) .

3.4.7. Zellzählung in der Lamina propria der  
Dünndarmzotten:

Die Auszählung von 80 Quadraten des Leitz-Okular-Zählnetzes ergibt eine Vermehrung der überwiegend lymphocytären Zellelemente in der Lamina propria der Zotten von  $667 \pm 76,3$  auf  $857 \pm 90,3$  Zellen (= +28%) und der nicht epithelialen Zellen in der Zottenepithelzellreihe von  $33,5 \pm 3,5$  auf  $38,0 \pm 27,6$  Zellen (= +13%), ohne daß dabei eine statistische Signifikanz erzielt werden kann (vgl. Abb. 14).

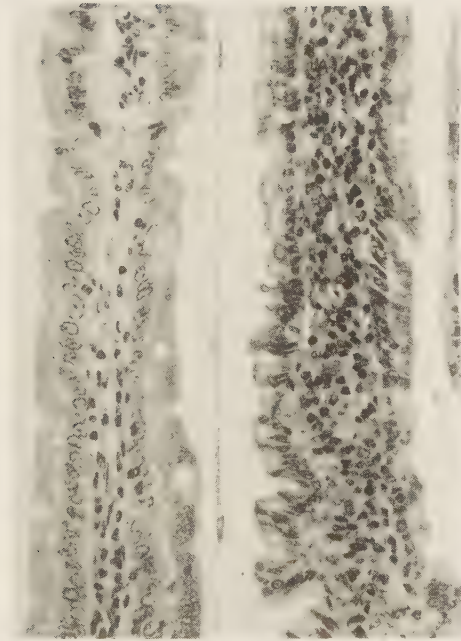


Abb.: 14      Darstellung des Zellinfiltrats in der  
Lamina propria der Duodenalzotten von  
niereninsuffizienten (rechts) und Kontroll-  
tieren (links). Vergr. ca.900x

### 3.5. Versuch B

#### 3.5.1. $^3\text{H}$ -Markierungsindex: (Tab. 6)

Bei einem Vergleich der korrigierten  $^3\text{H}$ -Markierungsindices zwischen Kontroll- und niereninsuffizienten Tieren zeigt sich, daß mit Ausnahme des Jejunums in allen untersuchten Darmabschnitten eine unterschiedlich deutliche Abnahme des  $^3\text{H}$ -Index bei den niereninsuffizienten Tieren zu verzeichnen ist. Dabei findet sich die stärkste Veränderung mit einer Abnahme des korrigierten  $^3\text{H}$ -Index von 32% auf 24% im Colon descendens.

| Darm-<br>abschnitt | $^3\text{H}$ -Markierungs-Index<br>korr. |                | Mitose-Index<br>korr. |               | Regenerationszone/<br>Krypte |                            | Zellzahl pro Krypten-<br>reihe       |                           | Zellzahl pro Zotten-<br>reihe         |                                        |
|--------------------|------------------------------------------|----------------|-----------------------|---------------|------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
|                    | K                                        | U              | K                     | U             | K                            | U                          | K                                    | U                         | K                                     | U                                      |
| Duo                | 53,2 $\pm$ 8,1                           | 48,9 $\pm$ 1,2 | 4,8 $\pm$ 1,3         | 4,7 $\pm$ 0,7 | 58,1 $\pm$ 1,9               | 62,3 $\pm$ 5,0             | 44,2 $\pm$ 6,1<br>p < 0,01<br>(+39%) | 60,4 $\pm$ 3,5            | 97,3 $\pm$ 6,4<br>p < 0,01<br>(+31%)  | 135,2 $\pm$ 12,7<br>p < 0,01<br>(+44%) |
| Jeju               | 54,2 $\pm$ 4,2                           | 56,7 $\pm$ 4,0 | 5,1 $\pm$ 1,6         | 6,7 $\pm$ 2,0 | 60,1 $\pm$ 2,8               | 62,3 $\pm$ 2,4             | 35,5 $\pm$ 4,1                       | 37,8 $\pm$ 3,3<br>(+6,5%) | 71,8 $\pm$ 13,8<br>p < 0,01<br>(+31%) | 94,4 $\pm$ 2,8                         |
| Ile                | 55,9 $\pm$ 3,9                           | 50,2 $\pm$ 2,9 | 6,1 $\pm$ 2,7         | 5,2 $\pm$ 0,8 | 63,8 $\pm$ 6,1               | 64,9 $\pm$ 2,0             | 31,7 $\pm$ 3,1                       | 34,6 $\pm$ 3,5<br>(+9%)   | 49,1 $\pm$ 5,1                        | 51,0 $\pm$ 3,6<br>(+4%)                |
| Col.asc.           | 24,7 $\pm$ 4,9                           | 23,3 $\pm$ 1,5 | 3,2 $\pm$ 0,7         | 1,7 $\pm$ 1,3 | 59,7 $\pm$ 1,8               | 64,7 $\pm$ 2,1<br>p < 0,01 | 36,5 $\pm$ 7,4                       | 37,2 $\pm$ 1,8            | -                                     | -                                      |
| Col.desc.          | 32,0 $\pm$ 4,0                           | 23,7 $\pm$ 7,9 | 4,7 $\pm$ 1,7         | 2,3 $\pm$ 0,7 | 56,4 $\pm$ 5,4               | 61,8 $\pm$ 4,0             | 48,8 $\pm$ 4,0                       | 49,6 $\pm$ 1,6            | -                                     | -                                      |

## Versuch B

Tab. 6: Morphometrische und proliferationskinetische Befunde im Darmschleimhautepithel von Ratten mit chronischer Niereninsuffizienz (U) im Vergleich zu den Kontrolltieren (K) (Mittelwerte mit Standardabweichung;  $n_U = 5$ ,  $n_K = 5$ ; 10 Krypten pro Darmabschnitt).

### 3.5.2. Doppelmarkierungsverfahren (Tab. 7a/b):

Mit steigenden Harnstoffwerten nehmen im Dünndarm die Generationszeiten an Dauer zu, während eine allmähliche Verlängerung der DNS-Synthesezeit ( $T_S$ ) nur im Jejunum erkennbar ist. In den beiden Dickdarmabschnitten ist dagegen eine beträchtliche Zunahme der Generationszeit ( $T_C$ ), aber auch der DNS-Synthesezeit ( $T_S$ ) nachweisbar. Diese Verlängerung von  $T_C$  beträgt bei dem Tier mit dem höchsten Serumharnstoffwert im Colon ascendens rund 15 Std., im Colon descendens sogar rund 33 Std., während die DNS-Synthesezeit nur um maximal etwa 3 Std. verlängert ist. Daraus folgt, daß die Verlängerung der Generationszeit in erster Linie zu Lasten der postmitotischen Ruhephase ( $T_{G1}$ ) geht.

Bei Betrachtung der Mittelwerte von den verschiedenen Tieren mit unterschiedlichem Grad der Niereninsuffizienz zeigt sich, daß die Verlängerung der Mitosecycluszeiten weniger deutlich wird als im Einzelfall mit relativ höheren Harnstoffretentionswerten. Wie bereits im Versuch A an einem kasuistischen Beispiel dargestellt, zeigt sich auch hier, daß die proliferationskinetischen Veränderungen in deutlicher Abhängigkeit vom Retentionsgrad zustande kommen (vgl. Tab. 7a/b).

| Tier                        | Harnstoff<br>mg%    | Duo                             |                                | Jeju                           |                                | Ile                              |                                |                               |                                |                                |
|-----------------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                             |                     | T <sub>S</sub>                  | T <sub>C</sub>                 | T <sub>S</sub>                 | T <sub>C</sub>                 | T <sub>S</sub>                   | T <sub>C</sub>                 |                               |                                |                                |
| K                           | 52 <sup>±</sup> 9   | 6,3 <sup>±</sup> 0,8            | 11,8 <sup>±</sup> 0,7          | 3,4 <sup>±</sup> 0,5           | 6,3 <sup>±</sup> 0,4           | 11,5 <sup>±</sup> 0,5            | 3,2 <sup>±</sup> 0,6           | 6,9 <sup>±</sup> 1,3          | 12,2 <sup>±</sup> 1,4          | 3,3 <sup>±</sup> 0,3           |
| T <sub>1</sub> <sup>*</sup> | 110                 | *                               | -                              | -                              | -                              | -                                | -                              | -                             | -                              | -                              |
| T <sub>2</sub>              | 118                 | 6,3                             | 12,7                           | 4,4                            | 6,6                            | 11,3                             | 2,7                            | 6,2                           | 11,6                           | 3,4                            |
| T <sub>3</sub>              | 138                 | 6,5                             | 11,4                           | 2,9                            | 7,7<br>(+22%)                  | 11,4                             | 1,7                            | 6,6                           | 13,5                           | 4,9                            |
| T <sub>4</sub>              | 167                 | 6,5                             | 13,5<br>(+22%)                 | 5,0                            | 7,7<br>(+22%)                  | 13,0<br>(+13%)                   | 3,3                            | 6,3                           | 12,9                           | 4,6                            |
| U                           | 134 <sup>±</sup> 25 | 6,4 <sup>±</sup> 0,3<br>(+1,5%) | 12,5 <sup>±</sup> 1,1<br>(+6%) | 4,1 <sup>±</sup> 1,1<br>(+20%) | 7,3 <sup>±</sup> 0,7<br>(+16%) | 11,9 <sup>±</sup> 1,0<br>(+3,5%) | 2,5 <sup>±</sup> 1,0<br>(-22%) | 6,4 <sup>±</sup> 0,4<br>(-7%) | 12,7 <sup>±</sup> 1,1<br>(+4%) | 4,3 <sup>±</sup> 0,7<br>(+30%) |

Tab. 7a: Versuch B (Doppelmarkierungsverfahren)

DNS-Synthese- und Gesamtgenerationszykluszeit der regenerierenden Darmschleimhaut-epithelien chron. niereninsuffizienter Ratten (T<sub>1</sub> - T<sub>4</sub>) in Std. Angegeben sind die individuell berechneten Einzelwerte und bei U die daraus errechneten Mittelwerte. Kontrollen: K (n<sub>k</sub> = 3).

In Klammern: Prozentuale Veränderungen gegenüber dem Kontrollmittelwert. T<sub>G1</sub> wurde berechnet aus: T<sub>G1</sub> = T<sub>C</sub> - (T<sub>S</sub> + T<sub>M</sub> + T<sub>G2</sub>). Für T<sub>M</sub> + T<sub>G2</sub> 2 Std. angenommen.

\* wegen technischer Fehler Dünndarmabschnitte und Colon asc. nicht auswertbar.

| Tier           | Harnstoff<br>mg%    | Colon asc.                     |                                 |                                 | Colon desc.                    |                                  |                                   |
|----------------|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
|                |                     | T <sub>S</sub>                 | T <sub>C</sub>                  | T <sub>G1</sub>                 | T <sub>S</sub>                 | T <sub>C</sub>                   | T <sub>G1</sub>                   |
| K              | 52 <sup>±</sup> 9   | 6,4 <sup>±</sup> 0,8           | 25,9 <sup>±</sup> 4,0           | 17,4 <sup>±</sup> 4,8           | 6,7 <sup>±</sup> 1,3           | 20,2 <sup>±</sup> 2,4            | 11,5 <sup>±</sup> 1,9             |
| T <sub>1</sub> | 110                 | -                              | -                               | -                               | 7,3                            | 28,3<br>(+40%)                   | 19,0                              |
| T <sub>2</sub> | 118                 | 6,6                            | 28,2                            | 19,6 <sub>μ</sub>               | 7,6                            | 26,2<br>(+30%)                   | 16,6                              |
| T <sub>3</sub> | 138                 | 8,0<br>(+25%)                  | 30,7<br>(+18%)                  | 20,7                            | -                              | -                                | -                                 |
| T <sub>4</sub> | 167                 | 9,0<br>(+41%)                  | 41,6<br>(+61%)                  | 30,6                            | 9,7<br>(+45%)                  | 53,4<br>(+157%)                  | 41,7                              |
| U              | 134 <sup>±</sup> 25 | 7,9 <sup>±</sup> 1,3<br>(+23%) | 33,5 <sup>±</sup> 7,1<br>(+29%) | 23,6 <sup>±</sup> 6,2<br>(+35%) | 8,2 <sup>±</sup> 1,3<br>(+22%) | 36,0 <sup>±</sup> 15,2<br>(+78%) | 25,7 <sup>±</sup> 14,0<br>(+123%) |

Tab. 7b: Dickdarm

### 3.5.3. Mitoseindex:

Wie sich aus Tab. 6 ablesen läßt, bleibt der Mitoseindex, von unregelmäßigen Schwankungen abgesehen, unverändert. Auch die mit Hilfe des Mitoseindex und des  $^3\text{H}$ -Markierungsindex nach der Formel  $\frac{T_M}{T_S} = \frac{\text{korr. Mit.-Index}}{^3\text{H-Index}}$  errechnete

Dauer der Mitose ergibt keine Veränderungen.

### 3.5.4. Zellzählungen in Krypte und auf der Zotte (Tab. 6):

Bei Betrachtung der mittleren Zellzahlen pro Kryptenepithelzellreihe ergibt sich ein deutlicher Trend zur Zunahme bzw. zur Verlängerung der Krypte in allen Darmabschnitten, wobei die Zunahme im Duodenum mit einem Anstieg von 44 auf 60 Zellen pro Kryptenepithelreihe sogar statistisch signifikant ist (vgl. Tab. 6). Relativ am geringsten ist diese Tendenz in den beiden Dickdarmabschnitten erkennbar. Gemessen an den mittleren Zellzahlen verlängert sich gleichzeitig die Regenerationszone in den Krypten, wobei eine gering überproportionale Zunahme des relativen Anteils der Regenerationszone an der gesamten Kryptenpopulation erkennbar wird.

Bei den mittleren Zellzahlen pro Epithelzellreihe auf den Zotten ist im Vergleich zu den Kontrollen die Zunahme im Duodenum und Jejunum statistisch signifikant und wird zum Ileum hin geringer.

Aus der Zunahme der mittleren Kryptentiefe und der Zunahme der Zottenlänge, jeweils gemessen an der mittleren Epithelzellzahl, resultiert eine Verbreiterung bzw. eine Hyperplasie der gesamten Dünndarmschleimhaut, die besonders im Duodenum nachweisbar wird.

#### 4. Zusammenfassung der Ergebnisse

##### 4.1. Histologische und fermenthistochemische Veränderungen

Histologisch konnten keine akut entzündlichen, erosiven oder ulcerösen Schleimhautveränderungen festgestellt werden. In der Lamina propria der Darmschleimhaut und im Oberflächenepithel fand sich eine vermehrte rundzellige, überwiegend lymphocytäre (chronisch entzündliche) Infiltration, die durch eine entsprechende Auszählung objektiviert wurde, wobei die mittlere Zunahme des Zellinfiltrats 28% betrug. Bei einzelnen Tieren mit verhältnismäßig hohen Harnstoffretentionswerten wurden in kleineren Arterienästen darmnaher Mesenterialanteile Veränderungen im Sinne einer Panarteriitis festgestellt.

Fermenthistochemisch ergab sich kein Anhalt für eine verminderte Aktivität der alkalischen Bürstensaumphosphatase und damit kein Hinweis auf eine eingeschränkte Differenzierung der Enterocyten.

##### 4.2. Proliferationskinetische Befunde: <sup>3</sup>H-Markierungsindex:

Beim <sup>3</sup>H-Markierungsindex fand sich in fast allen Darmabschnitten in beiden Versuchen eine unterschiedlich starke Abnahme mit einem statistisch signifikanten maximalen Unterschied von 10%, wobei aber gleichzeitig in einigen Darmabschnitten bei nur relativ geringgradigen Abweichungen vom mittleren Kontrollwert lediglich ein Trend zur Abnahme zu verzeichnen war.

Bei der Analyse der Dauer des Generationscyclus und seiner Einzelphasen zeigte sich eine Tendenz zur Verlängerung in der Niereninsuffizienz, die besonders im Dickdarm deutlich wurde. Hierbei zeigte sich wie auch beim <sup>3</sup>H-Markierungsindex eine deutliche Abhängigkeit vom Grad der Niereninsuffizienz, gemessen an den Harnstoffwerten im Serum. In der Ver-

suchsreihe A mit einem mittleren Endharnstoffwert von nur 108 mg% betrug die maximale Verlängerung der Generationscycluszeit  $T_C$  etwas mehr als 3 Std. (Tab. 1), meist war sie aber deutlich geringer. In der zweiten Versuchsreihe mit einem höheren mittleren Harnstoffwert von 129 mg% konnte dagegen in den beiden Dickdarmabschnitten eine Verlängerung der gesamten Generationscyclusdauer um bis zu 15 Std. festgestellt werden. Noch deutlicher wurde diese Abhängigkeit von dem Grad der Niereninsuffizienz, wenn die Veränderungen bei den einzelnen Tieren abgestuft nach den Harnstoffwerten betrachtet wurden (vgl. Tab. 7a,b). Die allgemein festzustellende Tendenz zur Verlängerung der gesamten Generationszeit ergab sich vor allem aus einer Verlängerung der postmitotischen  $G_1$ -Phase, während die DNS-Synthesezeit ( $T_S$ ) vergleichsweise nur geringgradig verlängert war. Auf Grund der Messungen, in dem allerdings nur kurzen Beobachtungszeitraum von 19 Std., ließ sich eine Verminderung der Wanderungsgeschwindigkeit markierter Epithelzellen auf den Zotten um bis zu 38% feststellen. Daraus ergab sich schätzungsweise eine Verlängerung der gesamten Wanderungszeit bis zur Zottenspitze um etwa 34% im Ileum bei deutlich zunehmender Tendenz vom Duodenum zum Ileum.

#### 4.3. Morphometrische Befunde:

Übereinstimmend in beiden Versuchsreihen ergab sich in allen drei Dünndarmabschnitten mit allmählicher Abnahme vom Duodenum zum Ileum eine deutliche Vergrößerung der Kryptenzellzahl entsprechend einer Verlängerung der Krypten. Gleichzeitig nahm auch die mittlere Regenerationspopulation bzw. die Ausdehnung der Regenerationszone zu, wobei z.T. sogar ein geringgradig überproportionales Anwachsen in der zweiten Versuchsreihe mit den höheren Harnstoffwerten erkennbar war. Auch in den beiden Dickdarmabschnitten war diese Tendenz zu erkennen, wobei hier sogar die überproportionale Zunahme der Regenerationszone wesentlich deutlicher wurde.

## 5. Diskussion

Die zum Studium der urämischen Darmschleimhautveränderungen notwendige Niereninsuffizienz wurde in den vorliegenden Versuchen durch operative Nierenparenchymreduktion erzeugt. Bei allen anderen Methoden, wie z.B. einer toxischen oder artifiziell entzündlichen Nierenschädigung, ist deren eigener Effekt auf die Darmschleimhaut viel schwieriger von dem eigentlich zu analysierenden nephrogenen Effekt abzugrenzen. Die Schwierigkeit in der vorliegenden Versuchsanordnung bestand darin, einen ausreichend hohen Grad an Niereninsuffizienz über einen längeren Zeitraum zu erhalten, da durch eine ausgeprägte Hypertrophie der Restniere eine weitgehende Kompensation der primär reduzierten Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen erreicht wurde (vgl. Romen und Heine 1972).

Eine nicht unmittelbar urämiebedingte Schädigungsmöglichkeit auf das Darmschleimhautepithel stellt der nach der Nierenresektion postoperativ auftretende Hungereffekt dar. Er wurde von Stevens Hooper und Blair (1958) erstmals beobachtet und von Wiebecke, Heybowitz, Löhrs, Eder (1969) genauer histoautoradiographisch analysiert. Dabei fand sich eine Verlängerung des Generationscyclus des Darmschleimhautepithels durch Verlängerung der DNS-Synthese- und der postmitotischen  $G_1$ -Phase, einhergehend mit einer Reduktion der Zahl der Mitosen und der DNS-synthetisierenden Zellen. Wie der Gewichtsverlauf (Abb. 5 u. 6) in der vorliegenden eigenen Untersuchung erkennen läßt, kann ein Hungereffekt zum Zeitpunkt der Untersuchung, d.h. am Versuchsende, weitgehend ausgeschlossen werden. Um größere Gewichtsverluste zu vermeiden, bekamen die Versuchstiere, die einen deutlichen Gewichtsverlust p.op. zeigten, zusätzlich eine hochkalorische Sondennahrung.

Zum besseren Verständnis der in der chronischen Niereninsuffizienz auftretenden Veränderungen in der Proliferationskinetik der Darmschleimhaut sei eine kurze Betrachtung der phy-

siologischen Epithelregeneration in der Dünn- und Dickdarmschleimhaut vorausgeschickt: Der Zellwechsel der Darmschleimhaut befindet sich in einem dynamischen Fließgleichgewicht, d.h. die Zellproduktion in der Regenerationszone der Krypten und der Zellverlust an den Zottenspitzen sind gleich groß. Das wurde bereits von älteren Autoren vermutet bzw. beschrieben (Bizzorero 1888; Leblond und Stevens 1948; Leblond und Walker 1956; Quastler und Sherman 1959; Bertalanffy 1960), aber erst von B. Schultze et al. (1972) experimentell eindeutig nachgewiesen. Trotz eines intensiven Zellwechsels - täglich sollen beim Mensch etwa 225g Epithelzellen in die Darmlichtung abgegeben werden (Leblond und Walker 1956) - wird durch dieses Fließgleichgewicht die Konstanz der Struktur und der Funktion mit einer hohen resorptiven Leistung des Zottenepithels aufrechterhalten. Eine Störung des Darmschleimhautaufbaus bzw. ihrer Struktur und der damit eng verknüpften Funktion ergibt sich dann, wenn entweder im Bereich des differenzierten Epithels oder des regenerierenden Epithels eine Schädigung wirksam wird, die nicht kompensiert werden kann. Durch welchen Regelmechanismus das Fließgleichgewicht zwischen ständigem Zellverlust und der Zellregeneration aufrechterhalten wird, ist letztlich noch nicht geklärt, obwohl zu dieser Frage eine Reihe von Hypothesen und Theorien entwickelt worden sind. Der Ablauf der Zellvermehrung, -wanderung, -differenzierung, und -alterung scheint genetisch determiniert zu sein, wie Explantationsversuche von Darmschleimhautstücken in eine fremde Umgebung gezeigt haben (Sjöstrand und Zetterlund 1968; Sprinz 1971).

Daneben scheinen weitere endo- und exogene Faktoren auf die Epithelregeneration einzuwirken. Von Leblond und Carriere (1955) wurde ein stimulierender Einfluß des Wachstumshormons und des Thyroxins aufgezeigt. Auch ein lokaler gewebespezifischer Faktor des Dünndarms scheint Einfluß auf die Proliferationskinetik zu haben. So wurde ein hormonartiger Stoff als Regulationsstimulans postuliert (Loran und Crocker

1963; Knudtson et al. 1963; Loran, Crocker, Carbone 1964; Altmann und Leblond 1970). In neuerer Zeit wurde von Tutton 1973 in Analogie zum Chalon-Prinzip an der Epidermis ein negatives feed-back-Kontrollsystem mit einem hormonalen Prinzip postuliert. Von anderer Seite wurden Argumente für eine positive Korrelation zwischen der Nahrungsmenge in der Darmlichtung und der Schleimhautepithelregeneration bzw. Größe der Schleimhautoberfläche gesammelt (Dowling et al. 1967; Dowling und Booth 1967; Clarke 1974). Der Keimbessiedelung des Darmes scheint ebenfalls eine Bedeutung für die Aufrechterhaltung oder für eine Störung der normalen Epithelregeneration zuzukommen (Abrams, Bauer, Sprinz 1963; Leshner, Walburg, Sacher 1964); außerdem wurde ein Effekt der Darm- und Zottenmotilität auf die Zellwanderung vermutet (Stevens Hooper 1956), wobei anscheinend dem autonomen Nervensystem (Dupont, Biggers, Sprinz 1965; Tutton 1975) eine wesentliche Bedeutung für die Zellwanderung zukommt. Mehrfach wurde das Fehlen tageszeitlicher Schwankungen in der Epithelregeneration nachgewiesen (Bertalanffy 1960; Leblond und Walker 1956; Wegener, Hollweg, Maurer 1964; Pilgrim, Maurer 1965), ein wichtiger Befund für die Durchführung und die Vergleichbarkeit von experimentellen Untersuchungen über die Epithelregeneration der Darmschleimhaut.

Trotz dieser zahlreichen Hypothesen und Theorien, die z.T. durch experimentelle Untersuchungsbefunde gut fundiert sind, ist bis heute die Frage der Regulierung des Epithelumsatzes in der Darmschleimhaut nicht geklärt. Es ist vor allem auch unklar, welche Faktoren die im Bereich der oberen Kryptenanteile sich vollziehende Differenzierung der aus der Regenerationspopulation ausgewanderten Epithelzelle zum absorptionsfähigen Enterocyten steuern. In diesem Zusammenhang werden lokale Gewebefaktoren, zusammengefaßt als sogenanntes "microenvironment" diskutiert.

Welche Störungen der normalen Darmschleimhautepithelregeneration wurden in der vorliegenden Versuchsanordnung mit ex-

perimenteller Niereninsuffizienz nun festgestellt?

Eine Schädigung des differenzierten Oberflächenepithels oder eine Störung der Differenzierung wurde nicht nachgewiesen, gemessen an der unveränderten Aktivität der alkalischen Bürstensaumphosphatase, dem Leitenzym der Differenzierung zum absorptionsfähigen Enterocyten (Pearse 1967). Im Gegensatz dazu hatten Castrup, Löhrs und Eder (1970) mit einer experimentell auf ähnliche Weise erzeugten hochgradigen, kurzfristigen Niereninsuffizienz an Mäusen eine deutliche Aktivitätsminderung der alkalischen Bürstensaumphosphatase festgestellt und als Hinweis auf Differenzierungsstörungen verwertet.

Für die Aussagefähigkeit der hier durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen ist von Bedeutung, daß in der niereninsuffizienten Stoffwechsellage die Verfügbarkeitszeit des  $^3\text{H}$ -Thymidins nicht verändert ist (vgl. Castrup, Löhrs, Eder 1970; Löhrs et al. 1973).

Aus den Ergebnissen der histoautoradiographischen Untersuchungen geht hervor, daß die physiologische Epithelregeneration in der Niereninsuffizienz beeinträchtigt wird. Diese Beeinträchtigung manifestiert sich in einer in allen untersuchten Darmabschnitten mit unterschiedlicher Deutlichkeit zum Ausdruck kommenden Verlängerung des Generationscyclus. Das kommt sowohl durch eine Verlängerung der DNS-Synthesephase als auch der postmitotischen  $G_1$ -Phase zustande, wobei besonders die postmitotische  $G_1$ -Phase betroffen ist. Zwischen Dünn- und Dickdarm ergeben sich dabei insofern Unterschiede, als die Verlängerung im Dickdarm wesentlich deutlicher ist. So beträgt die relative Zunahme des gesamten Generationscyclus im Dünndarm bis 6%, wobei die DNS-Synthesephase um etwa 7% und die  $G_1$ -Phase 11% gegenüber den Kontrollen verlängert ist (vgl. Tab. 1). Im Dickdarm betragen die entsprechenden Werte für die gesamte Generationszeit maximal im Colon descendens 78%, für die DNS-Synthesezeit 22% und für die  $G_1$ -Phase 123% (vgl. Tab. 7b). Für eine Verlängerung der Mitosezeit, wie sie von Mc Dermott und Mitarb. (1974) bei Mäu-

sen mit experimenteller, kurzfristiger bzw. akuter Niereninsuffizienz angegeben wurde, ergab sich in den vorliegenden Versuchen kein Anhalt.

Insgesamt zeigt sich in den einzelnen Darmabschnitten eine breite Streuung der Verlängerungen der einzelnen Phasen, dennoch ist überall eine einheitliche Tendenz zu erkennen. Allem Anschein nach liegt der Grund dafür, daß diese Verlängerung z.T. nicht deutlicher zum Ausdruck kommt, in der relativ niedrigen durchschnittlichen Höhe der Niereninsuffizienz bzw. der Retentionswerte begründet. Die Berechtigung zu dieser Annahme ergibt sich aus dem kasuistischen Vergleich einzelner Tiere mit unterschiedlich hohen Harnstoffretentionswerten. Es zeigt sich dabei nämlich eine deutliche Abhängigkeit der proliferationskinetischen Veränderungen bzw. der Verlängerung des Generationscyclus von dem Grad der Niereninsuffizienz, gemessen am individuellen Harnstoffwert. Darüber hinaus haben die Versuche mit einer akuten, hochgradigen Niereninsuffizienz (Castrup, Löhrs, Eder 1970; Mc Dermott, Dalton 1974) ebenso wie die Ergebnisse in einer chronischen Niereninsuffizienz mit höheren Retentionswerten (Löhrs et al. 1973) ebenfalls eine wesentliche deutlichere Verlängerung des Generationscyclus erbracht.

Im Gegensatz zu den in den eigenen Versuchen nachgewiesenen Verlängerungen der Generationszeit des regenerierenden Darm-schleimhautepithels fanden Wegener und Mitarb. (1971) im Schleimhautepithel des Rattenmagens während einer kurzfristigen Niereninsuffizienz nach 5/6-Nierenresektion eine Verkürzung des Generationscyclus bei allen Zelltypen. Diese und die eigenen Untersuchungsergebnisse geben keinen Aufschluß darüber, ob es sich dabei um eine organbedingte Divergenz handelt. Auffällig ist nur die Angabe von Wegener und Mitarb., daß die beobachtete Generationszeitverkürzung offenbar zum Pylorus hin bzw. in der Pylorusschleimhaut abnahm und sich der Norm näherte. Die Beantwortung der Frage nach den Ursachen dieser Divergenz wird dadurch erschwert,

daß bis heute nicht klar ist, welche Noxen es im einzelnen sind, die die verschiedenen Organschädigungen im niereninsuffizienten bzw. urämischen Zustand bewirken. Als "Urämiegifte" sind eine Reihe von nachgewiesenen und hypothetischen Metaboliten diskutiert worden (vgl. Hodler und Vorburger 1970). Dabei ist u.a. die nicht unwidersprochene Auffassung vertreten worden, daß in die Darmlumina ausgeschiedener Harnstoff durch bakterielle Urease zu Ammoniak gespalten würde, und daß Ammoniak für den schädigenden Effekt verantwortlich sei. Auch für den mikrobiellen Abbau von Kreatinin im Darm sind Hinweise gefunden und die Entstehung toxischer Endprodukte ist diskutiert worden (Jones u. Burnett 1972).

Ob und inwieweit die in den vorliegenden Untersuchungen allerdings nur teilweise nachgewiesenen nekrotischen und entzündlichen Veränderungen an Arteriolen des Mesenteriums und der Submucosa zu einer Verminderung der Epithelregeneration führen können, läßt sich an Hand der durchgeführten Untersuchungen nicht eindeutig beantworten. Da sie aber nur bei einigen Tieren mit hohen Niereninsuffizienzgraden nachweisbar waren, bei anderen Tieren aber keine Gefäßveränderungen gefunden wurden, dürfte ihnen zumindest nicht der alleinige oder entscheidende Einfluß zugeschrieben werden.

Es erhebt sich die Frage, in welchem Zusammenhang die beobachtete Veränderung der Generationszeit mit der gleichzeitig nachgewiesenen Vermehrung der Epithelzellzahl in den Krypten und auf den Zotten steht. Dabei betrug die Verlängerung der Krypten im Dünndarm maximal 36%, die der Zotten 39% (jeweils im Duodenum; vgl. Tab. 6), wobei eine deutlich abnehmende Tendenz vom Duodenum zum Ileum hin festzustellen war. Im Dickdarm war diese Verlängerung geringer und betrug hier maximal 26% (vgl. Tab. 2). Durchweg konnte dabei eine gleichzeitige, meistens proportionale Zunahme der Regenerationspopulation bzw. der Regenerationszone nachgewiesen werden, die in den höheren Niereninsuffizienzgraden sogar überproportional war. Ausgehend von der Annahme,

daß in der Niereninsuffizienz primär eine Verlängerung der Generationszeit durch eine oder mehrere unbekannte Noxen erzeugt wird, läßt sich die Vermehrung der Regenerations- und Kryptenpopulation als kompensatorischer Vorgang auffassen. Durch eine Verlängerung der Generationszeit der regenerierenden Zellen in den Lieberkühnschen Krypten vermindert sich die Zellproduktion bzw. der Zellnachschub auf die Zotten, d.h. das dynamische Fließgleichgewicht zwischen Zellproduktion und Zellverlust wird gestört. Das Ergebnis wäre eine Verkürzung der Zotten mit Verkleinerung der Resorptionsfläche, außerdem könnten erosive und/oder ulceröse Veränderungen entstehen. Diese Veränderungen würden z.B. den Folgen einer Hemmung oder sogar vollständigen Unterdrückung der Zellregeneration entsprechen (vgl. Eder und Löhrs 1965; Eder 1966). Offensichtlich wird diese Reduktion der Zellerneuerung in der Niereninsuffizienz nun durch eine Vergrößerung der Regenerationspopulation kompensiert. Welcher Regulationsmechanismus dabei wirksam wird, ist, wie erwähnt, bis heute nicht bekannt. Auffällig ist dabei nur, daß das Größenverhältnis zwischen der Regenerationszone und der Reifungszone (Differenzierungszone) innerhalb der Krypte meist gleichbleibt und sich nur bei relativ höheren Niereninsuffizienzgraden die Regenerationszone leicht überproportional ausdehnt. Weshalb es zu der absoluten Vergrößerung der Differenzierungszone über die Norm hinaus kommt, ist schwer zu deuten und läßt sich aus den vorliegenden Untersuchungen nicht direkt schließen.

Eine theoretische Möglichkeit wäre eine Beschleunigung der Wanderungsgeschwindigkeit etwa infolge eines gesteigerten Epithelnachschubs, so daß die Zelle eine längere Strecke benötigt, um die erforderliche Differenzierungszeit zu erreichen. Dafür ergeben sich aber keine Anhaltspunkte, zumal in den vorliegenden Versuchen sogar eine Verlangsamung der Zellwanderung nachgewiesen wurde. Größere Wahrscheinlichkeit hat die Überlegung, daß aus irgendeinem Grunde der Differenzierungsvorgang, den die Epithelzelle bis zum

Austritt auf die Zotte durchläuft, gestört ist. Infolgedessen könnte die einzelne Epithelzelle längere Zeit, d.h. eine größere Strecke benötigen, um ihre Differenzierung zu vollenden, zumal sich in den vorliegenden Untersuchungen kein Anhalt für eine mangelhafte Differenzierung der Zottenepithelien ergab.

Die Betrachtungen über die Größenveränderungen in der Krypte müssen solange spekulativen Charakter behalten, als nicht bekannt ist, welche Faktoren dazu führen, daß die Epithelzelle an einer bestimmten Grenze ihre proliferative Tätigkeit aufgibt und in die Differenzierungsphase eintritt, um dann an einer bestimmten Grenze (Kripten-Zotten-Junktion) als ausgereifter Enterocyt ihre resorptive Funktion zu übernehmen.

Unter dem Gesichtspunkt der kompensatorischen Vorgänge bei der Schleimhautregeneration sind die Veränderungen der Wanderungsgeschwindigkeit bzw. der gesamten Wanderungszeit der aus der Regenerationszone über die Zotte bis zur Zottenspitze wandernden Zelle von besonderem Interesse. Es zeigt sich dabei, daß die Wanderungsgeschwindigkeit im Duodenum etwa gleich ist und die hochgerechnete gesamte Wanderungszeit nur eine geringgradige Verzögerung aufweist. Diese Meßwerte nehmen aber zum Ileum hin deutlich ab, so daß im Ileum eine Verlangsamung der Wanderungsgeschwindigkeit von  $7,4 \mu/\text{Std.}$  auf  $4,6 \mu/\text{Std.}$  berechnet wurde. Während im Duodenum für die gesamte Wanderungszeit bis zur Zottenspitze nur ein sehr geringgradig erhöhter Wert nachgewiesen wurde, beträgt ihre Verlängerung im Ileum etwa 16 Std., d.h. sie ist etwa um ein Drittel länger als der Kontrollwert. Gleichzeitig ist eine Zunahme der Zottenlänge im Duodenum zu verzeichnen, die aber zum Ileum hin deutlich geringer wird, so daß teilweise sogar eine Zottenverkürzung nachweisbar war. Setzt man diese Befunde in Beziehung zu den Veränderungen in den Kripten bzw. in der Regenerationszone, so ergibt sich folgendes Bild: Die Zunahme der Kriptenpopulation und der Regenerationspopulation ist im Duodenum am deutlichsten ausge-

prägt und nimmt über das Jejunum zum Ileum hin ab. Demgegenüber lassen sich bezüglich der Generationszeitverlängerung in den drei Dünndarmabschnitten keine Abstufungen erkennen. Unter Berücksichtigung dieser Befunde läßt sich daraus der folgende Schluß ziehen: Bei etwa gleicher Verlängerung der Generationszeiten in allen drei Dünndarmabschnitten ist die Kompensation des dadurch an sich verringerten Zellnachschiebs im Duodenum voll erreicht, gemessen an der nicht veränderten Wanderungsgeschwindigkeit und der sogar zu registrierenden Zunahme der Zottenlängen. In den weiter distal gelegenen Dünndarmabschnitten, besonders im Ileum, wird dagegen zwar die Zottenzellzahl noch erhalten, die Wanderungsgeschwindigkeit nimmt aber deutlich ab (vgl. Abb. 15). Daraus läßt sich schließen, daß die Epithelzellen besonders im Bereich der oberen Zottenabschnitte verzögert ersetzt werden, mit anderen Worten, daß sie ein höheres Alter erreichen. Aus dieser Tatsache resultiert eine erhöhte Vulnerabilität des Oberflächenepithels. Das bedeu-

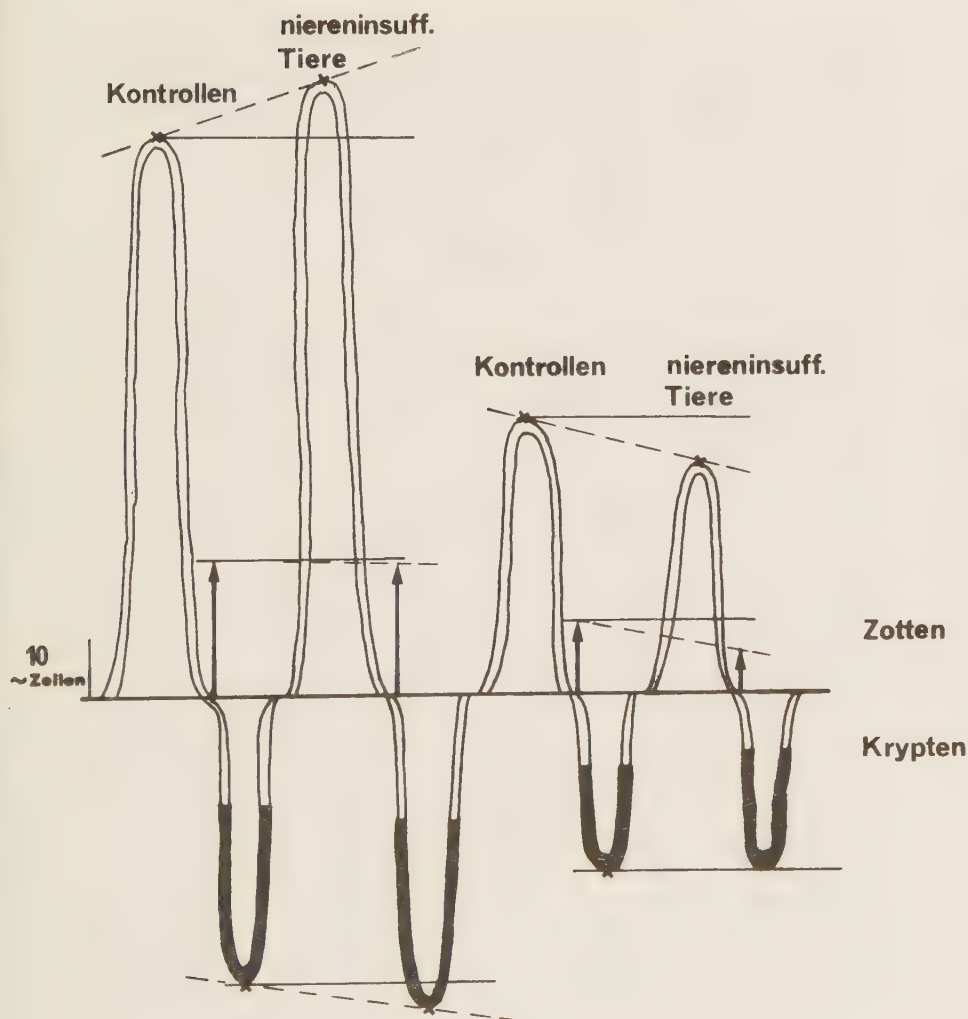


Abb.: 15 Schematische Darstellung der morphometrischen Befunde im Duodenum und Ileum. Versuch A  
 Der Pfeil stellt die etwa in 10 Std. von den Zellen durchwanderte Strecke dar.  
 Im unteren Teil der Krypte ist die Regenerationszone dunkel dargestellt.

tet also, daß in den vorliegenden Untersuchungen die Verlängerung der Generationszeit in der Niereninsuffizienz im Duodenum voll kompensiert ist, im Ileum zwar noch zu keinen faßbaren morphologischen Veränderungen geführt hat, dennoch aber eine erhöhte Vulnerabilität anzunehmen ist. Eine Zunahme der Häufigkeit von Darmschleimhautschäden während einer chronischen Niereninsuffizienz in cranio-caudaler Richtung, wie sie schon von Siegmund (1929) und Jaffé und Laing (1934) beschrieben wurde, erfährt somit aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen eine experimentelle Begründung. Im Dünndarm dürfte dafür das sinkende Ausmaß der Kompensation zum Ileum hin, im Dickdarm die hier viel ausgeprägtere Verlängerung der Generationszeiten verantwortlich sein.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse lassen erkennen, daß die morphologischen Auswirkungen der Darmschleimhautschädigung in der Niereninsuffizienz von dem Kräfteverhältnis zwischen der Stärke der schädigenden Noxe bzw. dem Niereninsuffizienzgrad einerseits und der kompensatorischen Potenz des betroffenen Gewebes andererseits abhängen. Auf diese Weise lassen sich auch die der glutensensitiven Enteropathie ähnlichen Schleimhautatrophien erklären, die Riecken und Mitarb. (1969) und Riecken (1970) bei einigen Patienten in der terminalen Phase einer chronischen Niereninsuffizienz beobachtet haben. Ebensolche Schleimhautveränderungen mit Zottenatrophie und verlängerten Krypten können besonders dann auftreten, wenn die vorhandene Kompensationsmöglichkeit erschöpft ist, der Zellnachschub also abnimmt, damit auch die Zottenlänge reduziert wird, gleichzeitig aber zumindest noch vorübergehend die kompensatorisch verlängerten Krypten bestehen bleiben. Es ist z.B. denkbar, daß es zu einer Erschöpfung der Kompensation in der Epithelregeneration der Darmschleimhaut kommt, wenn Schübe mit höheren Retentionsgraden zu einer weiteren Drosselung der Epithelproliferation führen. Außerdem können andere Faktoren wie z.B. ein Hungerzustand (Wiebecke und Mitarb. 1969) und zusätzliche

Noxen wie Zytostatika (Eder u. Löhrs 1965; Eder, Rostock, Vogel 1966), aber auch Antibiotica (Eder u. Goppelt 1966) komplizierend hinzukommen.

### Zusammenfassung

An insgesamt 92 weiblichen Wistar-Ratten wurde die Proliferations-Kinetik des Schleimhautepithels an 3 Dünndarm- und 2 Dickdarmabschnitten in einer experimentell erzeugten chronischen Niereninsuffizienz von 59-61 bzw. 70-71 Tagen Dauer in zwei Versuchsansätzen mit Hilfe histoautoradiographischer und morphometrischer Methoden untersucht. Dazu wurden folgende Methoden angewandt:

Das  $\text{^3H}$ -markierte-Mitosen-Verfahren und das Doppelmarkierungsverfahren mit  $\text{^3H}$ -Thymidin zur Bestimmung der Dauer des Generationscyclus der regenerierenden Darmschleimhautepithelien, der  $\text{^3H}$ -Markierungs-Index, der Mitose-Index, sowie Zellzählungen und Messungen zur Bestimmung der Krypten- und Zottenlängen und der Wanderungszeit bzw. -geschwindigkeit der führenden  $\text{^3H}$ -markierten Zelle. Fermenthistochemisch wurde die Aktivität der alkalischen Bürstensaumphosphatase bestimmt.

Histologisch zeigten die Darmpräparate keine Schleimhautdefekte. In der Lamina propria wurde eine vermehrte, überwiegend lymphocytäre Infiltration durch Zellzählung nachgewiesen. Bei einzelnen Tieren mit relativ hohen Harnstoffretentionswerten wurden Gefäßveränderungen kleiner Arterienäste besonders im Mesenterium und in der Submucosa im Sinne einer Panarteriitis gefunden.

Die Gesamtdauer des Generationscyclus der regenerierenden Epithelzellen in der Darmschleimhaut zeigte eine vom Niereninsuffizienzgrad abhängige Tendenz zur Verlängerung. Diese verteilte sich im Dünndarm ungefähr gleichmäßig auf die DNS-Synthesephase (S-Phase) und die postmitotische Ruhephase ( $G_1$ -Phase). Die Verlängerung der Generationszeit im Dickdarm war wesentlich ausgeprägter, ganz überwiegend infolge einer Verlängerung der  $G_1$ -Phase. Änderungen des Mitose-Index oder der Mitosezeit konnten nicht festgestellt werden. Morphometrisch ergab sich eine Verlängerung von Zotten und Krypten auf Grund einer Zunahme der Epithelzellzahl, wobei

der relative Anteil der Regenerationspopulation an der Kryptenpopulation etwa gleich blieb. Bei diesen Veränderungen zeigte sich eine abnehmende Tendenz von Duodenum zum Ileum z.T. sogar mit einer Verringerung der Krypten- und Zottenzellzahl im Ileum. Im Dickdarm waren die Krypten ebenfalls verlängert. Die Wanderungsgeschwindigkeit der differenzierten Enterocyten auf den Zotten war, zunehmend vom Duodenum zum Ileum, verringert, so daß die Gesamtwanderungszeit bis zur Zottenspitze besonders im Ileum deutlich verlängert war.

Aus den erhobenen Befunden wird der Schluß gezogen, daß es in der experimentellen, chronischen Niereninsuffizienz primär zu einer Verlängerung der Generationscycluszeit der regenerierenden Darmschleimhautepithelzellen kommt. Die Vergrößerung der Regenerations- und Kryptenpopulation wird als Kompensation des durch die Regenerationsverzögerung verminderten Zellnachschiebs aufgefaßt. Dabei ergibt sich im Dünndarm eine in craniocaudaler Richtung abnehmende Kompensation. Dies zeigt auch die besonders im Ileum verzögerte Wanderungsgeschwindigkeit an. Im Dickdarm reichte in den vorliegenden Untersuchungen die Kompensation trotz der hier sehr ausgeprägten Verzögerung des Generationscyclus aus, um die Schleimhautdicke zu erhalten.

Auf Grund dieser Ergebnisse erscheint es gut denkbar, daß es besonders unter Einwirkung zusätzlicher Noxen wie z.B. Hungerzustand, Cytostatica, Antibiotica oder auch akuter urämischer Schübe zu einer Dekompensation der Epithelzellregeneration und damit über Epitheldefekte zur sogenannten urämischen Enterocolitis kommt. Entsprechend der klinischen Erfahrung an urämischen Patienten ist das vor allem im Dickdarm zu erwarten, wo die proliferationskinetischen Veränderungen am deutlichsten ausgeprägt waren.

Literatur

ABRAMS,G.D., BAUER,H., SPRINZ,H.:

Influence of the normal flora on mucosal morphology  
and cellular renewal in the ileum.

Lab. Invest. 12, 355-364, 1963

ALTMANN,G.G., LEBLOND,C.P.:

Factors influencing villus size in the small intestine  
of adult rats as revealed by transposition of intestinal  
segments.

Amer. J. Anat. 127, 15-36, 1970

BERTALANFFY, F.D.:

Mitotic rates and renewal time of the digestive tract  
epithelia in the rat.

Acta anat. 40, 130-148, 1960

BIZZOZERO, B.:

Über die Regeneration der schlauchförmigen Drüsen und  
des Epithels des Magen-Darm-Kanals.

Anat. Anz. 1888, 781-784

BLOCH,R., MENGE,H., LANGE,H., DOMBROWSKI,H., RIECKEN,E.O.:

Funktionelle und morphologische Befunde am Dünndarm bei  
chronisch terminaler Niereninsuffizienz.

Zschr. Gastroenterol. 6, 535-547, 1973

BURSTONE,M.S.:

Histochemical comparison of naphthol-AS-phosphates for  
the demonstration of phosphatases.

J. Nat. Cancer Inst. 20, 601, 1958

zitiert nach Barka, T. u. Anderson, P.J.:

Histochemistry. Harper & Row, New York 1968

CASTRUP,H.J., LÖHRS,U., EDER,M.:

Autoradiographische und histochemische Untersuchungen  
zur Entstehung der sogenannten urämischen Enterocolitis.

Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 349, 357-367, 1970

CLARKE, R.M.:

Control of intestinal epithelial replacement:  
lack of evidence for a tissue-specific blood-borne factor.  
Cell Tissue Kinet. 7, 241-250, 1974

DOWLING, R.H., BOOTH, C.C.:

Structural and functional changes following small intestinal resection in the rat.  
Clin. Sci. 32, 139-149, 1967

DOWLING, R.H., RIECKEN, E.O., LAWS, J.W., BOOTH, C.C.:

The intestinal response to high bulk feeding in the rat.  
Clin. Sci. 32, 1-9, 1967

DUPONT, J.R., BIGGERS, D.C., SPRINZ, H.:

Intestinal renewal and immunosympthectomy.  
Arch. Path. 80, 357-362, 1965

EDER, M.:

Zur Darstellung von Wachstum und Differenzierung durch  
gleichzeitige Autoradiographie mit  $^3\text{H}$ -Thymin und histo-  
chemische Enzymreaktionen.  
Naturwissenschaften 51, 339, 1964

EDER, M.:

Zellerneuerung im Magen-Darm-Trakt.  
Verh. dtsh. Ges. Path. 50, 75-90, 1966

EDER, M., GOPPELT, D.:

Änderungen in der physiologischen Zellregeneration der  
Dünndarmschleimhaut bei Tetracyclinbehandlung.  
Klin. Wschr. 44, 1158, 1966

EDER, M., LÖHRS, U.:

Experimentelle Regenerationsstörungen der Darmschleim-  
haut.  
Dtsch. Arch. Klin. Med. 210, 202-216, 1965

EDER, M., ROSTOCK, H., VOGEL, G.:

Die Wirkung von Folsäureantagonisten (Methotrexat) auf die Regeneration der Darmschleimhaut.

Virchows Arch. Path. Anat. 341, 164-176, 1966

HILSCHER, W., MAURER, W.:

Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdopplung und ihres zeitlichen Verlaufs bei Spermatogonien der Ratte durch Doppelmarkierung mit  $^{14}\text{C}$ - und  $^3\text{H}$ -Thymidin.  
Naturwissenschaften 49, 352, 1962

HODLER, J. und VORBURGER, Ch.:

Biochemische Ursachen des Urämiesyndroms.  
aus Klin. Pathophysiologie (Siegenthaler, W.)  
2. Auflage 1973, S. 808  
Georg Thieme Verlag Stuttgart

JAFFÉ, R.H., LAING, D.R.:

Changes of the digestive tract in uremia.  
Arch. Int. Med. 53, 851-864, 1934

JONES, J.D., BURNETT, P.C.:

Implications of creatinine and gut flora in the uremic syndrome.  
Clin. chemistry 18, 280-284, 1972

KNUDTSON, K.P., PRIEST, R.E., SLOOP, R.D., JESSEPH, J.E.:

Effects of partial resection of mammalian small intestine.  
II. Cellrenewal of intestinal epithelium in the rat, with special reference of the colon.  
Lab. Invest. 12, 606-610, 1963

KOBURG, E., MAURER, W.:

Autoradiographische Untersuchungen mit ( $^3\text{H}$ -) Thymidin über die Dauer der Desoxyribonuklein-Säure-Synthese und ihren zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus.  
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 61, 229-242, 1962

LEBLOND, C.P. und CARRIERE, R.:

The effect of growth hormone and thyroxine on the mitotic rate of the intestinal mucosa of the rat.

Endocrinology 56, 261-266, 1955

LEBLOND, C.P., STEVENS, C.E.:

The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat.

Anat. Rec. 100, 357-377, 1948

LEBLOND, C.P., WALKER, B.:

Renewal of cell populations.

Physiol. Rec. 36, 255-276, 1956

LEMIERE, A., PIEDELIEVRE, E.:

Les ulcérations gastro-intestinales urémiques, leur rapport avec l'azotémie.

Gaz. d'hôp. 94, 1437, 1921

LENNARTZ, K.J., MAURER, W.:

Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdopplung und der Generationszeit beim Ehrlich-Ascites-Tumor der Maus durch Doppelmarkierung mit  $^{14}\text{C}$ - und  $^3\text{H}$ -Thymidin.

Z. Zellforschung 63, 478-495, 1964

LESHER, S., FRY, R.J.M., KOHN, H.J.:

Age and generation time of mouse duodenal epithelial cell.

Exp. cell. Res. 24, 334-343, 1961

LESHER, S., WALBURG, H.E., SACHER, G.A.:

Generation cycle in the duodenal crypt cells of germfree and conventional mice.

Nature 202, 884-886, 1964

LIPKIN, M., SHERLOCK, P., BELL, B.:

Cell proliferation kinetics in the gastrointestinal tract of man.

II. Cell renewal in stomach, ileum, colon and rectum.

Gastroenterology 45, 721-729, 1963

LÖHRS, U.:

Morphologische und proliferationskinetische Untersuchungen zur Epithelregeneration der Darmschleimhaut unter experimentellen Bedingungen und bei der menschlichen glutensensitiven Enteropathie.

Habilitationsschrift, München 1972

LÖHRS, U., CASTRUP, H.J., WIEBECKE, B., EDER, M.:

Effects of experimental uremia on the small intestinal epithelium.

aus: "Intestinal Adaptation"

Proceedings of an International Conference of the Anatomy, Physiology, and Biochemistry of Intestinal Adaptation. 159-170, 1973

F.K. Schattauer Verlag Stuttgart - New York

LÖHRS, U., WIEBECKE, B., EDER, M.:

Untersuchungen zur Aussagefähigkeit der Histoautoradiographie mit <sup>3</sup>H-Thymidin am Dünndarmepithel.

Histochemie 18, 157-163, 1969

LORAN, M.R., CROCKER, T.T.:

Population dynamics of intestinal epithelia in the rat two months after resection of ileum.

J. Cell Biol. 19, 285, 1963

LORAN, M.R., CROCKER, T.T., CARBONE, I.V.:

The humoral effect of intestinal resection on cellular proliferation and maturation in parabiotic rats.

Fed. Proc. 23, 407, 1964

MASON, E.E.:

Gastrointestinal lesions occurring in uremia.

Ann. int. Med. 37, 96-105, 1952

McDERMOTT, F.T., DALTON, M.K., GALBRAITH, A.J.:

The effects of acute renal failure on mitotic duration of mouse ileal epithelium.

Cell Tissue Kinetic 7, 31-36, 1974

MCDONALD, W.C., TRIER, J.S., EVERETT, N.B.:

Cell proliferation and migration in the stomach, duodenum and rectum of man: Radioautographic studies.

Gastroenterology 46, 405-417, 1964

MERRILL, J.P., SABBAGA, E., HENDERSON, L., WEIZANT, W., CRANE, C.:

The use of an inlying plastic conduit for chronic peritoneal irrigation.

Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Org. 8, 252, 1962

PEARSE, A.G.E. und RIECKEN, E.O.:

Histology and cytochemistry of the cells of the small intestine, in relation to absorption.

Brit. med. Bull. 23, 217-222, 1967

PILGRIM, Ch., MAURER, W.:

Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopplungszeit verschiedener Zellarten von Maus und Ratte bei Doppelmarkierung mit  $^3\text{H}$ - und  $^{14}\text{C}$ -Thymin.

Naturwissenschaften, 49, 544-545, 1962

PILGRIM, Ch., MAURER, W.:

Autoradiographische Untersuchungen über die Konstanz der DNS-Verdopplungsdauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit  $^3\text{H}$ - und  $^{14}\text{C}$ -Thymin.

Exp. Cell Res. 37, 183-199, 1965

PINEAU, M.:

Des hémorragies gastro-intestinales d'origine urémique.

Thèse de Paris 1899

QUASTLER, H., SHERMAN, F.G.:

Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse.

Exp. Cell Res. 17, 420-438, 1959

REICHHARD, P., ESTBORN, B.:

Utilisation of desoxyribosides in the synthesis of polynucleosides.

J. Biol. Chem. 188, 839-846, 1951

RIECKEN, E.O.:

Vergleichende bioptische Untersuchungen zur formalen Pathogenese der Dünndarmschleimhautveränderungen bei der einheimischen Sruce.

Klin. Wschr. 48, 1216-1225, 1970

RIECKEN, E.O., LANGE, H., MENGE, H., BLOCK, R.:

Dünndarmschleimhautveränderungen bei terminaler chronischer Niereninsuffizienz.

Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75, 656-658, 1969

ROMEN, W. und HEINE, W.-D.:

Nierenparenchymveränderungen bei 5/6-nephrektomierten Ratten.

Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 356, 42-57, 1972

SARRE, H., GESSLER, U., HEINZE, V.:

Die Urämie.

Internist (Berlin) 6, 446-454, 1965

SCHULTZE, B.:

Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm.

Hdb. d. Allg. Path. II/5. Teil, S. 466, 1968

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York

SCHULTZE,B., HAACK,V., SCHMEER,A., MAURER,W.:  
Autoradiographic investigation on the kinetics of  
crypt epithelia in the jejunum of the mouse.  
Cell Tiss. Kinet. 5, 131-145, 1972

SIEGMUND,H.H.:  
Einfache Entzündungen des Darmrohrs.  
in: Henke, F., Lubarsch, O.  
Hdb. d.spez. path.Anat. 1929, Bd. 4, S.261  
J. Springer, Berlin

SJÖSTRAND,J., ZETTERLUND,C.G.:  
Morphological and proliferative changes in tissues  
generated from a duodenal graft.  
Gastroenterology 54, 1129-1141, 1968

SPRINZ, H.:  
Factors influencing intestinal cell renewal.  
Cancer 28,71-74, 1971

STEVENS HOOPER,C.E.:  
Cell turnover in epithelial populations.  
J. Histochem. Cytochem. 4, 531-540,1956

STEVENS HOOPER,C.E., BLAIR,H.:  
The effect of starvation on epithelial renewal in the  
rat duodenum.  
Exp. Cell Res. 14, 175-181, 1958

TANNOCK,J.F.:  
A comparison of the relative efficiencies of various  
metaphase arresting agents.  
Exp. Cell Res. 47, 345, 1967

TREITZ,  
Über urämische Darmaffektionen.  
Vrtljschr. f.d. prakt. Heilkunde 64, 143, 1859

TUTTON, P.J.M.:

Control of epithelial cell proliferation in the small intestinal crypt.

Cell Tiss. Kinet. 6, 211-216, 1973

TUTTON, P.J.M.:

Neural stimulation of mitotic activity in the crypts of Lieberkühn in rat jejunum.

Cell Tiss. Kinet. 8, 259-266, 1975

VOLHARD, F.:

Die Urämie.

in: v. Bergmann, G. und Staehlin, R.

Hdb. d. inn. Med. (Berlin)

J. Springer, 1931, vol 6, pt 1

WEGENER, K., BÖRNER, M., KREMPIEN, B., WANKE, M., RITZ, E.:

Urämie und Proliferation an der Magenschleimhaut.

Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 8, 186-195, 1971

WEGENER, K., HOLLWEG, , MAURER, W.:

Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopplungszeit und anderer Teilphasen des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte.

Z. Zellf. 63, 309-326, 1964

WIEBECKE, B., HEYBOWITZ, R., LÖHRS, U., EDER, M.:

Der Einfluß des Hungers auf die Proliferationskinetik der Dünn- und Dickdarmschleimhaut der Maus.

Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 4, 164-175, 1969

WÜRTH, W.:

Über die Bedeutung der Arteriolenklerose für die Entstehung urämischer Nekrosen.

Virchows Arch. f. path. Anat. 284, 175, 1932

Meinem Doktorvater, Herrn Privatdozent  
Dr. Löhrs, möchte ich herzlich dafür danken,  
daß er mir stets mit gutem Rat, hilfreicher  
Kritik und unter Aufwand kostbarer Zeit zur  
Seite stand. Mein Dank gilt auch Frau Baumeister  
und Fräulein Lohmeyer für die technische Unter-  
stützung im Labor.



### Lebenslauf

Ich, Hans Arnholdt, wurde am 22.7.1951 als Sohn des Assistenzarztes Dr. Fritz Arnholdt und seiner Ehefrau Gertraut geb. Stünkel in Bevensen Kreis Uelzen geboren. Von 1957-60 besuchte ich die Volksschule in München. Da mein Vater 1960 Chefarzt in Stuttgart wurde, beendete ich dort meine Volksschulzeit und legte am 12.6.1969 die Reifeprüfung am Eberhard-Ludwigs-Gymnasium in Stuttgart ab. Zum WS 1969/70 begann ich mein Medizinstudium an der Universität München, wo ich am 28.9.1970 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 7.4.1972 die Ärztliche Vorprüfung ablegte.

Während der klinischen Semester famulierte ich in Innerer Medizin am Katharinen-Hospital in Stuttgart (Chefarzt Prof. Spang) und an der II. Medizinischen Universitätsklinik in München (Prof. Buchborn), in Chirurgie am Allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Barmbek (Chefarzt Prof. Raschke).

Im 2. klinischen Semester begann ich mit meiner tierexperimentellen Doktorarbeit am Pathologischen Institut der Universität München bei Herrn Privatdozent Dr. Löhrs. Die Ärztliche Prüfung habe ich am 11.6.1975 in München bestanden.









